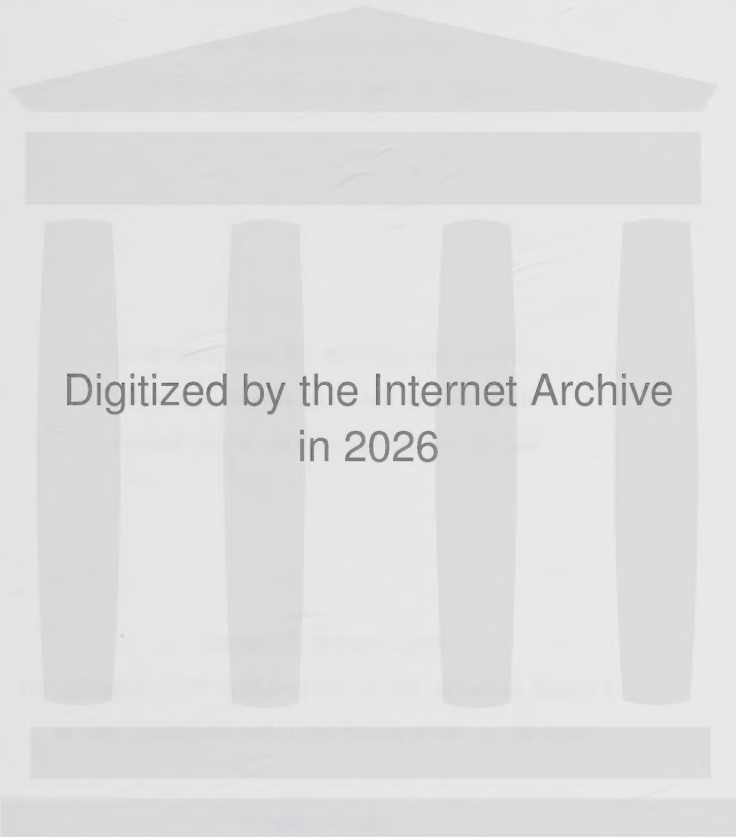


Untersuchungen zur Wirkung
von niederfrequenten Reizströmen
auf das Atrophieausmaß
des m. gastrocnemius der Ratte

Georg Beer



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der
Klinik für Physikalische Medizin
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. H. Drexel

"Untersuchungen zur Wirkung von nieder-
frequenten Reizströmen auf das Atrophie-
ausmaß des m. gastrocnemius der Ratte"

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Georg Beer
aus Eggenfelden

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Schnizer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Drexel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.05.1986

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
 - Fragestellung
2. Muskelatrophie und experimentelle Modelle
3. Elektrostimulation bei Muskelatrophie
4. Methodik
 - 4.1. Durchführung des Tierexperimentes
 - 4.1.1. Versuchstiere, Versuchsgruppen, Tierhaltung
 - 4.1.2. Immobilisation
 - 4.1.3. Schwellstromstimulation
 - 4.2. Histologische Verfahren
 - 4.2.1. Herstellung von histologischen Schnitten
 - 4.2.2. Histochemische Faserdifferenzierung
 - 4.3. Auswertung
 - 4.3.1. Herstellung von Photographien
 - 4.3.2. Histometrie
 - 4.3.3. Statistische Auswertung
5. Ergebnisse
 - 5.1. Muskelfaserumfang
 - 5.1.1. Darstellung der Mittelwerte
 - 5.1.2. Effekt der Immobilisation
 - 5.1.3. Effekt der Schwellstromstimulation
6. Diskussion
7. Zusammenfassung
8. Literaturverzeichnis

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Lebenslauf

Danksagung

1. Einleitung

Seit der Zeit, als es möglich war, elektrischen Strom herzustellen, ist auch bekannt, daß diese physikalische Erscheinungsform Wechselwirkungen mit biologischen Systemen zeigt, z.B. Schmerzauslösung durch Funkensprung am Hochfrequenzgenerator, Auslösung von Muskelzuckungen durch die direkte Einwirkung von Strom auf den Muskel oder aber den Nerven. Hier konnte Pflüger seine Zuckungsgesetze ableiten. Aber auch die destruierende Wirkung war bald bekannt, die Störung des Reizleitungssystems des Herzens mit schon relativ schwachen Strömen bis hin zu Gewebsschäden bei Starkstromunfällen. Ziemlich genau untersucht sind heute jene elektrischen Ströme, die der biologische Organismus erzeugt, zumindest in dem Bereich, wo uns dies mit geeigneten Mitteln exakt zu erfassen gestattet ist, so z.B. die Ströme der Erregungsausbreitung des Herzens, Ableitung von Muskeleigenpotentialen oder Gehirnströmen. Lange bevor derartige endogene elektrische Phänomene aufgezeichnet werden konnten, wandte man den elektrischen Strom zu verschiedenen medizinischen Zwecken an (REIMER 1840). Man behandelte Venenschwäche, Schlaflosigkeit, Hernien, Grauen Star, Geschwüre; versuchte Exsudate zu resorbieren, Harnsteine aufzulösen, Krampfkrankheiten zu heilen. Man therapierte aber bereits im 19. Jahrhundert schon die verschiedensten Paresen, Muskelatrophien und Hyperästhesien mit Strömen unterschiedlichster Art (REIMER 1840). Anfang bis Mitte des 20. Jahrhunderts fand die Hochfrequenzbehandlung z.B. nach D'ARSONVAL (Zitat von Hensler 1930) eine gewisse Verbreitung, bei der mit den bei der Entladung von Hochspannungen auftretenden Funken u.a. die Fulguration angewendet wurde.

Diese Art und die Anwendung von galvanischem Schwachstrom z.B. nach BRAUN (1926), sollte beinahe bei allen denkbaren Erkrankungen Hilfe bringen. In dieser Zeit (um 1899) kannte man auch bereits das Stangerbad. Sehr früh fanden erste

Versuche statt, die zum Ziele hatten, bestimmte Arzneistoffe in die Haut zu bringen. 1907 kam durch den Versuch von LEDUC gestärktes Interesse auf (Zitat n. GILLERT 1981, EDEL 1975). Unter der Bezeichnung "Iontophorese" wird diese Methode heute noch in der täglichen Praxis benützt.

Eine heutige Indikation für die Elektrotherapie ist die Atrophieprophylaxe. Bei Zuständen nach Verletzung von motorischen Nerven werden dem neurologisch verwaisten Muskel zur Aufrechterhaltung von Stoffwechsel- und mechanischen Aktivitäten Kontraktionen aufgezwungen, um die Reinnervationsbedingungen zu begünstigen. Etwas anders sieht es bei der oben erwähnten Atrophieprophylaxe aus, z.B. nach Knochenbrüchen oder operativen Eingriffen. Hier erhebt sich gerade in der letzten Zeit zu Recht die Frage nach dem wissenschaftlichen Wirksamkeitsbeweis der Elektrostimulation. So findet man in den einschlägigen Lehrbüchern diesen Sachverhalt sehr dürftig und unscharf gewürdigt: Man liest in "Niederfrequente Ströme zur Diagnostik und Therapie" (JANSCH-SCHUHFRIED) die Inaktivitätsatrophie betreffend: "Zum Beispiel nach Ruhigstellung ... Schwellstrombehandlung". In "Physical Medicine and Rehabilitation" (KENNETH, WASHBURN 1976), "Sportmedizin" (HOLLMANN 1976), "Physiotherapie im Aufbau" (FINDEISEN 1966), "Klinisches Lehrbuch der Physikalischen Therapie" (GROBER), "Rehabilitation " Band 3 (JOCHHEIM 1975) und "Handbuch der Physikalischen Therapie" Band 2 (GROBER 1971) findet man nur indirekte Hinweise auf Elektrotherapie bei Inaktivitätsatrophie. Im "Handbuch der Physikalischen Therapie" Band 4 (GILLERT 1968) heißt es: "Auch bei Inaktivitätsatrophien der Muskeln ... liegt das Hauptgewicht auf aktiver Gymnastik, elektrotherapeutisch vor allem Schwellstrombehandlung".

Die bereits vorliegenden Arbeiten zum Thema sind von Versuchsaufbau, Methodik

oder Fallzahl her zum Teil kritisch zu sehen und häufig sehr widersprechend. Wenn man bedenkt, daß die Krankenkassen nur wissenschaftlich anerkannte Methoden in der Heilbehandlung zulassen, so steht die Elektrotherapie zur Atrophieprophylaxe auf nicht sicheren Beinen. Sie genießt zwar eine gewisse Anerkennung, ist aber wissenschaftlich noch nicht ausreichend fundiert. Dieser Tatbestand führte in der Fachwelt zu verschiedenen Lagern, die von Befürwortung über Toleranz bis zur Ablehnung reichen. Die vorliegende Arbeit hatte sich die Aufgabe gestellt, anhand von geeigneten Parametern zu überprüfen, ob eine Behandlung mit niederfrequentem Reizstrom zur Verhinderung von Muskelatrophien sich als effektiv erweist. Voraussetzungen hierzu sind eine geeignete Stromform, eine Immobilisationsmethode, die eine ausreichende Atrophie der Skelettmuskulatur erzielt und relevante Parameter zu finden.

2. Muskelatrophie und experimentelle Modelle

Das Wort Atrophie begegnet uns recht häufig. Im Medizinischen Wörterbuch (PSCHYREMBEL 1975) ist es folgendermaßen definiert: Abmagerung als Folge von Ernährungsstörungen, Organschwund, Abnahme der Zahl oder der Größe der Zellen. GUTMANN (1969) sagte: "Muskelatrophie ist die Nicht-Ernährung des Muskels, eine Folge der Verschiebung des Eiweißstoffwechsels, einer Änderung des Gleichgewichts zwischen anabolischen und katabolischen Prozessen". Muskelatrophie kann auf vielfältige Weise entstehen. Lediglich ein Mindergebrauch führt beim trainierten Muskel sogar zum schnelleren Kraftverlust, als dies bei einem wenig trainierten der Fall ist, weil sich die Hypertrophie schneller abbaut (HETTINGER 1961), ein Muskel sicherlich dann, wenn er täglich mit weniger als 15% der Maximalkraft beansprucht wird (HETTINGER 1955). Bekanntermaßen können Muskelatrophien bei vielen verschiedenen Krankheiten

auftreten, seien es nun die ererbten Muskelerkrankungen oder Folgen von anderen Erkrankungen, z.B. bei Poliomyelitis, toxischer Polyradikulitis oder traumatischer Nervenschädigung. Es sei bemerkt, daß verschiedene Krankheiten zum Teil sehr unterschiedliche Atrophiemuster im Muskel erzeugen. Neben anderen Autoren, die ähnliches über andere Krankheiten berichten, auf die nicht eingegangen werden soll, fand STAUDTE (1977) dies bei unterschiedlichen Erkrankungen am Kniegelenk für den m. quadrizeps. So sind bei kurzdauernden Schmerzzuständen im Kniegelenk fast nur Fasern von langsamen Typ-I-Fasern betroffen, bei schwerbehinderten und fast völlig immobilisierten Patienten sind Typ-I- und Typ-II-Fasern betroffen, während mit zunehmendem Alter es zu einer vornehmlichen Atrophie der schnellen Typ-II-Fasern kommt. Man fand sogar, daß die Fasern eines Typs in verschiedenen Muskeln oder -teilen unterschiedlich atrophieren können.

So ist die Denervierungsatrophie der Fasern vom Typ II im weiß-rot gemischten m. plantaris der Ratte im weißen Anteil stärker ausgeprägt als im roten (JAWEED 1976). Unterstützt wird diese Auffassung von SCHIMRIGK (1977). Er fand mittels Succinatdehydrogenase- (SDH-) Färbung bei pH 9,4 die Fasern des Typ I dunkel, die Fasern IIa mittel und die Fasern IIb hell gefärbt. Interessant ist, daß die Muskelatrophie sofort ohne Verzögerung einsetzt (NAVEZ 1972) und nach 24 Stunden gut nachzuweisen ist (MILEDI 1968).

Weitere auslösende Ursachen für Atrophien sind Gipsimmobilisation z.B. nach Knochenbruch und Verstauchung, sowie Sehnendurchtrennung, Nervendurchtrennung oder -quetschungen. Muskelatrophie mittels Denervation oder Ruhigstellung ist bei obig genannten Ursachen recht ähnlich, zudem experimentell gut zu erzeugen. Allen diesen Atrophieformen gemeinsam ist (GUTMANN 1969) die Unterbrechung oder

Einschränkung der muskelspezifischen Kontraktion, was sich in der Verminderung des Zellumfangs sowie anderen histologischen Veränderungen äußert. Der Zellstoffwechsel ist mehr oder minder stark betroffen. Es findet eine Adaptation des Stoffwechsels an den Aktivitätsverlust statt, z.B. ändert sich die Cholinesterase und die Synthese der kontraktile Eiweiße. 1969 wurde noch die Ansicht vertreten, daß auch eine numerische Abnahme der Muskelzellen stattfindet. Eine Meinung, die NAVEZ (1972) teilt. Spätere Arbeiten (CARDENAS 1976, CARDENAS 1977) beweisen jedoch für die Atrophie gleichbleibende Zellzahlen. Nach COOPER (1972) verbleiben im Endstadium die Zellen irreversibel geschädigt als Flüssigkeit enthaltende Sarcotubes mit Fragmenten des Sarcolemms.

DENERVATIONSATROPHIE

GUTTMANN (1969) meint bezüglich des Proteinstoffwechsels, die Hauptcharakteristik der Regulationsstörungen im denervierten Muskel sei eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen Degeneration und Synthese der Proteine. So führt eine Veränderung der Geschwindigkeit der Synthese der spezifischen Proteine zur Änderung des Enzymmusters (BÜCHER 1965). Nach HAJEK (1966) und MUSKATELLO (1965) kommt es zur Erhöhung von RNS und Proteinen aufgrund der Erhöhung von Substratangebot infolge stärkerer "Blutdurchströmungsgeschwindigkeit" (GUTTMANN 1961, 1966), was nach Denervation eine Verschiebung der Synthese von den kontraktile zu den sarkoplasmatischen Proteinen hervorruft. Besonders interessant ist auch eine Erhöhung der Konzentration der DNS (GUTTMANN 1961 a/b) und der proteolytischen Enzyme (HAJEK 1964); hier zeigt sich offenbar eine Beziehung zur Höhe der Denervationsstelle. Die axonale Degeneration in den Endplatten (GUTTMANN 1955), erhöhte proteolytische Aktivität (HAJEK 1964), spontane Fibrillationsaktivität, erhöhte Empfindlichkeit für ACTH (LUCO 1955) und die Erniedrigung von Enzymaktivitäten (GUTTMANN 1961) treten um so eher auf,

je näher die Denervationsstelle am Muskel liegt. Hier postuliert man einen vom Nerven zum Muskel fließenden neurotrophen Stoff (GUTMANN 1969, CAJAL 1928, YOUNG 1945). Als Weiteres ist die Änderung von Eigenschaften der Zellmembran bei Denervation wichtig. An den Muskelzellen kommt es infolge einer Störung der Membranstabilität zu Fibrillationen (LANGLEY 1916). Eine Zunahme des Membranwiderstandes (NICHOLLS 1956) und Herabsetzung des Ruhepotentials sowie eine Verbreitung der Empfindlichkeit auf die ganze Muskelmembran gegenüber ACTH sind festzustellen.

Auch an den Mitochondrien lassen sich die denervierten Muskelfasern erkennen. Sind normalerweise die Mitochondrien gleichmäßig an beiden Seiten der Z-Linien angeordnet, lang, verzweigt, umgeben von Myofibrillen, so fallen an der atrophischen Faser sofort das unruhige Bild und die kleineren zirkulären Durchmesser auf (BÜCHER 1965).

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal zwischen Denervation und z.B. Tenotomie finden wir bei TAYLOR (1976). Bei dem denervierten Rattensoleus verringerte sich das Gewicht nach ein und drei Wochen um 25% und um 50%, während es sich nach Sehnendurchtrennungen bei zur gleichen Zeit durchgeführten Wägungen um 15% und 39% des Ausgangswertes erhöht haben soll.

TENOTOMIE

GUTMANN (1969) bringt eine treffende Charakteristik: "Wir erwarten, daß die Inaktivitätsatrophie eine Folge der Herabsetzung oder des Ausfalles der Impulsaktivität bedeutet, die zu trophischen Störungen führen, daß zweitens die spezifischen neurotrophen (d.h. nicht die Impulsaktivität gebundene) Mechanismen im wesentlichen bei der Inaktivitätsatrophie intakt bleiben, daß

aber drittens diese spezifischen Mechanismen direkt oder indirekt in Mitleidenschaft gezogen werden können. Die verschiedenen Bilder der Inaktivitätsatrophie bilden allerdings weder vom experimentellen noch vom klinischen Standpunkt eine Einheit." Die elektromyographische Aktivität ist sofort nach Sehnedurchtrennung im m. soleus herabgesetzt (VRBOVA 1963), im unterschiedlichen Ausmaß bei den Flexoren und den Extensoren (GUTTMANN 1952).

Einen wesentlichen Einfluß hat die verbleibende Muskelverkürzung nach Durchtrennung der Sehne. Je stärker die Verkürzung, desto erheblicher das Ausmaß der Atrophie (ECCLES 1941). Dabei ist die Eiweißsynthese im verkürzten Muskel erniedrigt und steigt bei Muskelstreckung an. Der Dehnungszustand scheint eine wichtige Rolle zu spielen. Die Eiweißsynthese ist stärker herabgesetzt bei Durchtrennung der Insertionsstellen als bei der Rückenmarkdurchtrennung (GUTTMANN 1952, MC MINN 1962). Neben peripheren Faktoren muß auch der zentrale Einfluß diskutiert werden. Hierbei ist (GUTTMANN 1952) die Muskelverkürzung nach interkollikulärer Durchtrennung besonders ausgeprägt und deutet auf rubro- und vestibulospinale Bahnen hin, die den Tonus und damit auch die Atrophie nach Tenotomie beeinflussen. Auf einer erhöhten Erregbarkeit der motorischen Neuronen beruht es, wenn es nach Tenotomie zu einer Erhöhung afferenter Signale kommt, zur Verkürzung der Latenzzeit und zur Erhöhung der Amplitude des monosynaptischen Reflexes (BERANEK 1959). Einen Überblick über strukturelle und Stoffwechseländerungen im Rattensoleus bei Tenotomie gibt AWAD (1974). Nach drei Tagen bilden sich Verbindungen zwischen den Zisternen des sarkoplasmatischen Retikulums und den Transversaltubuli. Nach einer Woche beobachtete man kleine Vakuolen innerhalb einer Muskelfaser. Anscheinend waren Glycogengranula und Mitochondrien an die Stelle von myofibrillären Segmenten getreten. Einige subsarlemnale mitochondriale Anhäufungen wurden sichtbar. Nach zwei Monaten sah

man eine gewisse Separation der Myofibrillen mit Akkumulation von Glycogen, Mitochondrien und Myelinfiguren.

Bei den chemischen Veränderungen sanken die LDH sowie Aldolase nach drei Tagen zu einem Minimalwert ab. Die LDH erreichte nach sieben, die Aldolase nach 25 Tagen wieder ihren Normalwert. Die CK nahm im Muskel um 50%, einen Tag nach Tenotomie bis 125% am 5. Tag zu und erreichte den Vergleichsnormalwert ebenfalls am 25. Tage. Einen abrupten Abfall zeigte die myofibrilläre ATPase während der ersten drei Tage und begann mit fallender CK wieder bis zum Normalwert nach 20 Tagen zu steigen. Proteine ohne Kollagencharakter sanken 5 Tage nach der Sehnensektion und blieben bis zum 25. Tag nach der Operation unter ihrem Normalwert. Die Muskellipide vermehrten sich um 50% am 2. postoperativen Tag und erreichten ebenfalls am 25. Tag den Normalwert. Einen wichtigen Einfluß auf den Grad der Atrophieausprägung nimmt die Kombination von Tenotomie und Denervation. Eine teilweise Addition der Atrophieerscheinungen ergibt sich bei dieser Kombination (GUTMANN 1961, MC MINN 1968). Die Arbeit von GUTMANN (1952) zeigt dies am Beispiel vom m. digit. longus: Zu einer bei Tenotomie üblichen Atrophie war es zusätzlich zu einer erheblichen Verfettung des Muskels gekommen, beide Atrophiearten potenzieren sich gegenseitig. Dabei ist das Ausmaß der Atrophie durch Denervation immer stärker ausgeprägt als durch Tenotomie, z.B. nahm die Pyruvatkinase bei Tenotomie auf 65% (LIPPSCHÜTZ 1921), bei Immobilisation und gleichzeitiger Denervation auf 10% der Kontrolle ab (STOLOV 1971).

IMMOBILISATION

Die bereits erwähnte dritte Art Atrophie zu erzeugen ist die Hypokinese, erreicht durch fixierende Maßnahmen oder Schwerelosigkeit. Unterschiedliche Ergebnisse der Literatur lassen sich größtenteils auf den differenten

Dehnungszustand der immobilisierten Muskulatur zurückführen. Es ist also keineswegs gleich, ob man in Flexions- oder Extensionsstellung immobilisiert. Nach MELICHNA (1974) ist beim extensor digit. longus die Kontraktionszeit verlängert, wenn in Streckhaltung, und verkürzt, wenn in Beugehaltung immobilisiert wird; die Atrophie der Fasern wird in Beugehaltung ausgeprägter.

In der gleichen Arbeit wird eine Abnahme der ATPase-Aktivität und eine Zunahme der oxidativen SDH-Enzymaktivität festgestellt. Die Verzögerung der Atrophieentwicklung läßt sich in gewissen Grenzen durch Vorspannung bewerkstelligen. Es kann gelegentlich auch zu einer geringen Massenzunahme kommen (SCHIAFFINO 1970). Bei Gipsimmobilisation (BOOTH 1977, HERBISON 1975) in Plantarflexion von 110° , also in verkürzter Stellung, läßt eine exponentielle Abnahme von Muskelfaß- und Trockengewicht, Cytochrom C und Citratsynthese bis zu einem neuen Gleichgewicht verzeichnen. Die Hälfte der Ausgangswerte ist bereits nach fünf bis sechs Tagen erreicht. Die relative Myoglobinkonzentration steigt, die absolute ist konstant. Bei der Gipsimmobilisation in Dorsalflexion von $15-20^\circ$, also in gestrecktem Zustand der Wadenmuskulatur, laufen die Vorgänge anders ab. Der Beginn der Atrophie erfolgt sehr viel später, oft auch erst nach einer vorübergehenden Hypertrophie.

MEYER (1922) hatte bereits eine ähnliche Beobachtung gemacht, wenn er darlegt, daß Muskeln in Streckung immobilisiert wenig oder überhaupt nicht atrophieren. Auch SOLANDT (1943) trifft diese Feststellung. STOLOV (1969) hat die Längenverhältnisse untersucht. Er gipste Ratten sowohl in Muskelverkürzung als auch Verlängerung und tenotomierte einen Teil dieser Tiere. Die verkürzt gegipsten Muskeln wurden kürzer, wobei sich der zusätzlich tenotomierte am meisten verkürzt; die gestreckt gegipsten verlängerten sich. Die Verkürzung

hatte sich in vier Wochen voll entwickelt (STOLOV 1976). Sie betrug am Muskelbauch des m. gastrocnemius 13% bzw. 15%. Die Aponeurosenlänge verlor am Ursprung 21%, an der Insertionsaponeurose 30%. Die Sarkomerenzahl verringerte sich um 10% im soleus, im gastrocnemius um 3%. Dieser Anpassungsvorgang an die neuen Gegebenheiten beginnt an der Aponeurose, dann an den Muskelfasern (STOLOV 1969). Bei den verlängert gegipsten Muskeln, die zunächst hypertrophieren können, bedeutet dies ebenfalls eine Art Neueinstellung auf die aktuelle Funktionslänge.

Nach dem Problem der Stellung bei Gipsimmobilisation soll nun noch näher auf die histologischen und histochemischen Veränderungen eingegangen werden, weil hier weder das reine Bild der Tenotomie noch das der Denervation vorliegt. COOPER (1972) beobachtete bereits am ersten Tag eine verdickte Basalmembran der Kapillaren und Muskelfasern. PORTUGALOV (1971) berichtete ebenfalls schon am ersten Tag bei dem besonders atrophieempfindlichen m. soleus über eine Art Ödem; das Kapillarendothel enthält pinozytäre Vesikel, die mit steigender Versuchsdauer zunehmen.

In den Muskelfasern waren die Zysternen des sarcoplasmatischen Retikulums verbreitert, die Mitochondrien angeschwollen. Am 3. Tag waren alle Komponenten der Muskelfasern betroffen: Lysis der Myofilamente, teils peripher, teils zentral, bereits jetzt Störung der Z-Streifen. TOMANEK (1974) bestätigt dies in der früheren Degeneration und spricht bei normalem Zellkern von einem teilweisen Verlust der Mitochondrien. PORTUGALOV (1971) sah sowohl vergrößerte, mit z.T. durchsichtiger Matrix, als auch verkleinerte Mitochondrien mit dichter Matrix. Diese lagen besonders subsarcoplasmatisch. In den Zonen der Ausbildung junger Mitochondrien fanden sich Anhäufungen freiliegender Ribosomen und Polysomen. Am

fünften bis siebten Tag gab es abgegrenzte Stellen mit großer Variabilität der Muskelfasergröße. Z.T. waren die Querschnitte zwei- bis dreimal größer als bei den Kontrolltieren; daneben fanden sich auch stark atrophische Fasern. Ganz am Anfang bilden sich im soleus, erst später im gemischten Muskel targetoide oder Targetzellen dadurch, daß das Diformasan der ATPase-Färbung in der Zellmitte intensiver granuliert. Nach 15 Tagen Immobilisation sah man auch klumpenförmigen Zerfall mit vakuolärer und wachsförmiger Degeneration, kreiszelliger Infiltration und Neubildung von Bindegewebe. Nach etwa der gleichen Zeit berichtete COOPER (1972) oft über "leer" zurückbleibende Muskelfasern. Bei noch funktionsfähigen Zellen sah er an Zell- und Basalmembran Einfältelungen am Z-Band. Unter dem Einfluß der myofibrillären ATPase (PORTUGALOV 1971) im Zentrum der veränderten Faser war eine deutliche Verringerung der Aktivität der Fermente festzustellen, weiterhin an diesen Stellen Desorientierung und Desintegration der Myofibrillen.

TOMANEK (1974) fand nach längerer Immobilisation zentrale Degenerationsherde. Nach 21 Tagen nahm der Extrazellulärraum zu und enthielt zahlreiche Fibroblasten sowie Makrophagen. Beim ganz aus langsamen Fasertypen bestehenden soleus war der Faserdurchmesser jetzt sehr stark reduziert und ist selbst nach 45 Tagen kaum stärker ausgeprägt. Langsamer und nur halb so stark war diese Abnahme bei dem aus schnellen oxidativ-glykolytischen bestehenden Fasern des M. vastus lateralis. Bei langer Immobilisation wird ein relativ durchscheinendes Sarcoplasma mit spärlichen Granula, einigen myofibrillären Fragmenten, mit intakten Z-Linien und degenerierten Myofibrillen angetroffen. Die Kerne, die vom Umbau gezeichnet waren, erschienen unverändert oder sind in eine zentrale Position gewandert. Ab dem 30. Tag haben sich Ketten von Zellkernen auf das Zentrum der Fasern abgesetzt. Kreiszellige Infiltrationen traten speziell an den Arterien auf. Am

60. Tag fand sich dort ein stark ausgeprägter Anhang von Kollagenfasern, die ATPase-Aktivität der Gefäßendothelzellen war verringert. Nach 22 Wochen (COOPER 1972) z.B. erscheinen Makrophagen an der Zellmembran, die Muskelgewichtsabnahme betrug ca. 30%. Die irreversibel geschädigten Zellen verbleiben zuletzt als Sarcotubes und enthalten nur Flüssigkeit und Fragmente des Sarkolems. Was die Glykogenstellwechsellenzyme angeht (PORTUGALOV 1971), so waren Phosphorylase und UTBG-Glycogensynthetase kurz nach Beginn der Immobilisation erniedrigt. Die Phosphorylase senkte sich weiter über den 15. - 20. Tag hinaus ab, während UTBG-Glycogensynthetase sich wieder erhöhte und von jetzt an Glycogen in den Muskelfasern ansammelte.

Die SDH sank bis auf einen Minimalpunkt am 30. Tag, stieg dann langsamer an, um am 60. Tag noch unter der Kontrolle zu liegen. Die Folge einer erhöhten ATPase-Aktivität war ein erniedrigter ATP-Gehalt besonders an den Grenzen der Muskelfasern, was sich dort in einer Verringerung der Diformasanablagerung um den 30. Tag äußerte. Im Zentrum der erwähnten Granula ließ sich oft keine Fermentaktivität nachweisen. Eine Verdichtung des Diformasans im Zentrum der Zelle (Targetzellen) kam zustande beim Erscheinen der zytoplasmatischen Fermente wie z.B. Glycerophosphatdehydrogenase, die ja eng im Zusammenhang mit Nikotinsäureamindehydrogenase (NAD) steht. Aus dem Vorgenannten zieht PORTUGALOV (1971) den Schluß einer bedeutsamen Verstärkung der oxidativen Prozesse in den zentralen Teilen der Muskelfasern. Global jedoch ist der Muskelstoffwechsel verringert. RIFENBERICK (1974) führt dazu folgendes an: Er fand eine erhebliche Minderproduktion von $^{14}\text{CO}_2$ aus Palmitat- $1\text{-}^{14}\text{C}$, β -Hydroxybutyraten- $3\text{-}^{14}\text{C}$ und Glucose- $6\text{-}^{14}\text{C}$. Diese Verringerung war auf 19 - 55% des Kontrollmuskels bereits nach 10 Tagen der Immobilisation eingetreten.

Wie früher schon angedeutet, sind die Muskeln mit ihren verschiedenen Muskeifaserzusammensetzungen unterschiedlich von der Immobilisation betroffen. TOMANEK (1974) betont die selektive Empfindlichkeit der langsamen Fasern. Die SDH-Aktivität war in den langsamen oxidativen (SO) Fasern des soleus stark vermindert, i.e. die Granulationen waren reduziert und subsarkolemmale Akkumulationen waren praktisch verschwunden.

Dagegen zeigte das genannte Ferment bei schnell oxidativ-glycolytischen (FOG) und schnellen glycolytischen (FG) Fasern des vastus lat. keine erhebliche Änderung. Ebenfalls von der Kontrolle nicht unterschiedlich war die Myosin ATPase-Aktivität in diesem Muskel, während sich im soleus die Fleckungsintensität einiger Fasern zum Dunkleren hin veränderte. Im weißen vastus lateralis war Hydroxyprolin nicht signifikant, im roten schwach und im soleus auf das Dreifache erhöht. Histologisch (TOMANEK 1974) halten die FOG-Myofibrillen einen parallelen Verband von Filamenten und ihren Z-Linien bis in die späten Phasen der Degeneration. FG-Fasern bilden bei allen Atrophiemodellen wellige Myofibrillen mit irregulären schwachen Z-Linien und normalen Filamenten. Bei den SO-Fasern zeigten sich fokale Desintegration und Sarkomerenauflösung bei dichten Z-Banden. Bei PORTUGALOV (1971) hatten unter Hypokinesebedingungen die Soleusfasern nach anfänglicher Hypertrophie rasche Atrophie gezeigt, die gemischt-schnellen Fasern zeigten jedoch eine langsamere Entwicklung, doch von Anfang an progressiv auftretende Veränderungen. Auch Targetzellenbildung nach Vacuolisation wurden häufiger in Typ-I-Fasern des langsam-oxidativen soleus als in Typ-I- oder -II-Fasern des schnellen plantaris, hier auch mehr in Typ-I-Fasern festgestellt (HERBISON, JAWEED, DITUNNO 1976), was die erhöhte Empfindlichkeit der Typ-I-Fasern unterstreicht. Bei Denervierung sollen dieser Arbeit zufolge eher die Typ-II-Fasern atrophieren. MAIER (1973)

findet am Katzengastrocnemius auch die Fasern vom Typ I als die am schnellsten atrophierenden, gefolgt von den FOG-Fasern; die FG-Fasern atrophieren hiernach am wenigsten.

An diesen Beispielen sollte neben früher genannten zeitlichen Veränderungen gezeigt werden, daß eine Immobilisationsdauer von drei Wochen zur experimentellen Erzeugung einer Muskelatrophie und ihrer Folgeerscheinungen ausreicht. Als Immobilisationsart sollte eine Neutralstellung der Extremität gewählt werden. Auch B00TH (1977) hält Neutralstellung der Füße zur Erzeugung der Immobilisationsatrophie für sehr gut geeignet.

3. ELEKTROSTIMULATION BEI MUSKELATROPHIE

Die letzte wichtige, zum Thema führende Frage ist die Stromart, welche am besten einen therapeutischen Effekt auf den Skelettmuskel erwarten läßt. In der Literatur wurden verschiedenste Formen verwendet. HERBISON (1971) führte Elektrostimulation nach Denervation durch. Dabei war das Muskelgewicht des therapierten Muskels zur unbehandelten Kontrolle abhängig von der Impulsdauer der Ströme. Er behandelte von 0,2 bis 100 Millisekunden (ms) bei Frequenzen von 5/sec bis 25/sec. PORTUGALOV (1971) behandelte auch mit frequenz- und amplitudenmodulierten Strömen bei einer Impulsdauer von 0,7 bis 1,0 ms, einer Grundfrequenz von 0,5 Hz, bis zu einer Frequenz von 130 Hz, Spannung 6-7-20 Volt, Therapiedauer 5 bis 30 Minuten. SCHUM (1973) verwendete 70 - 100 Hz, Impulsdauer 5 - 1 ms, eine Sekunde lang, worauf drei Sekunden Pause folgten, 5 - 15 Minuten lang. STOLOV (1971) stimulierte mit einer Frequenz von 40 Hz und einer Stromstärke von 7 mA. BAGELL (1976) propagiert sinusförmig modulierte Wechselströme (60 Hz) bei primären und toxischen Polyradikulitiden.

Man trifft also unterschiedlichste Versuchsanordnungen an. Für die Behandlung am Menschen sind die wichtigsten Voraussetzungen, daß keine therapiebedingten Beschwerden und trotzdem ein Therapieeffekt auftreten sollen. Man wird also geeignete Stromparameter und Behandlungsdauer berücksichtigen müssen.

Definitionsgemäß teilt man Elektrotherapie in sog. Niederfrequenz- (NF) bis 1 Kilohertz (kHz), Mittelfrequenz- (MF) bis 100 kHz und Hochfrequenzbehandlung (HF) über 100 kHz, ein (KUPRIAN 1981). Grundsätzlich darf man annehmen, daß die Schmerzempfindung bei sinusförmigem Strom mit fallender Frequenz stärker, mit höherer schwächer wird (HOLLMANN, HETTINGER 1976). Verschiedene Frequenzen haben unterschiedliche Wirkung. Als richtungsweisende werden angegeben für die NF bei noch erträglicher Stromstärke: Eine Analgesie bei 250 Hz bei sinusförmigem Wechselstrom (GILLERT 1981), gleichgerichteter Strom wirkt analgetisierend und sympathikusfördernd um 100 Hz; 20 - 40 Hz ergeben eine optimale Vagus-, 4 - 10 Hz eine optimale Sympathikusreizung; 50 Hz rufen eine Vibrationsempfindung und einen Verdeckungseffekt über das ZNS, als auch eine optimale Tetanisierung der Skelettmuskeln hervor, welche bei 100 Hz und gleicher Stromstärke wieder nachläßt; 1 - 10 Hz bewirken Einzelkontraktionen in der Skelettmuskulatur.

Vorwiegend wird bei der Behandlung von Inaktivitätsatrophien die Schwellstrombehandlung angewendet (GILLERT 1981). Deshalb sollte sich diese Art des Stromes im niederfrequenten Bereich ebenfalls für die vorliegende Arbeit als wirkungsvoll erweisen, aber unter reproduzierbaren experimentellen Bedingungen. GILLERT (1968) gibt einen kurzen Überblick, wenn er darlegt:

"Schwellstrombehandlung wird eigentlich nur bei tetanischen Stromarten angewendet."

Die Dauereinwirkung amplitudenkonstanter Frequenzen wurde zu einer unphysiologischen Dauerkontraktion des Muskels führen und eine erhebliche sensible

Belästigung verursachen. Deshalb läßt man bei diesen Frequenzen die Stromstärke in regulierbarem Rhythmus an- und abschwellen. Man hat also beim Schwellstrom zweierlei zu beachten:

1. Die Impulsfrequenz, in der das An- und Abschwellen der Stromstärke erfolgt.

Der Einzelimpuls wirkt im Millisekunden-Bereich.

2. Die Schwellfrequenz wird nach Anzahl der Schwellungen pro Minute reguliert.

Therapeutisch bedeutende Stromformen sind die sog. neofaradischen Ströme. Sie bestehen aus dreieckförmigen Gleichstromimpulsen oder rechteckförmigen Strömen mit einer Impulsdauer von 1 ms und einer Pausendauer von 20 ms, was einer Frequenz von ca. 50 Hz entspricht. Der Strom kann allgemein in verschiedener Impulsform als Rechtecks-, Dreiecks- und Exponentialimpuls verwendet werden. Häufig therapeutisch benützt sind die sog. Diodynamischen Ströme, welche P. Bernard als Gleichstrom superponierte, verschiedenartig modulierte gleichgerichtete Wechselströme von 50 - 100 Hz beschrieb, zur Schmerzlinderung und Hyperämisierung eingesetzt werden. Andere Stromformen, die sich zur Muskelstimulation als geeignet erwiesen haben, entstammen aus dem sog. Mittelfrequenzbereich. Sie kommen meistens als amplitudenmodulierter- oder Interferenzstrom zur Anwendung.

4. METHODIK

4.1. Durchführung des Tierexperimentes

4.1.1. Versuchstiere, Versuchsgruppen, Tierhaltung

Der Versuch wurde mit 70 Vistarratten, die zum Versuchsbeginn etwa 2 Monate alt waren und um 190 Gramm wogen, durchgeführt. Sie rekrutierten sich aus 8 Würfen und wurden in drei Versuchsgruppen randomisiert. Die Tiere in zwei Versuchsgruppen erhielten unterschiedliche Behandlungsarten, die dritte Gruppe diente als Kontrolle. Die verschiedenen Versuchsgruppen, Manipulationsart, Versuchs-Code und Anzahl der Tiere sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Versuchsgruppe	Manipulationen	Anzahl der Tiere
1. Gruppe (A 3)	Immobilisation und Schwellstromstimulation	n = 21
2. Gruppe (XA 3)	Immobilisation ohne Elektrostimulation	n = 25
3. Gruppe "0"	keine Manipulation, Kontrollgruppe	n = 24

Die Versuchstiere wurden in Plastikkäfigen mit Gitterdach in trockenen Kellerräumen untergebracht. Die Temperatur betrug hier um 15°C und die künstliche Beleuchtung wurde dem saisonalen Tagesrhythmus angepaßt. Die Ratten erhielten eine Standardkost und Wasser nach Bedarf. Die Tiere wurden ab zwei Wochen vor Versuchsbeginn täglich gewogen, aus dem Käfig genommen und an den Behandler gewöhnt. Auf diese Weise wurden die Tiere auf die geplante Manipulation vorbereitet, die ohne Sedierung dieser stattfinden sollte.

4.1.2. Methode der Immobilisation

Die Erzeugung der Immobilisationsatrophie kann durch verschiedene Fixationsverbände erfolgen (BOOTH 1973, 1977; CARDENAS 1976, 1977; HERBISON 1978, 1979). Wir entwickelten einen einfachen Verband, der möglicherweise nicht zur vollständigen Akinese, jedoch eine konstant mittelschwere Atrophie erzielte. Auf diese Weise glaubten wir, den Tieren weniger Streß zugefügt zu haben. Unser Verband ermöglichte die freie Beweglichkeit der Ratte auf drei Extremitäten im Käfig und den kompensatorischen Einsatz des kontraindizierten Beines. Bei dem

Verband handelte es sich um einen Ober- und Unterschenkelschienenverband. In der Schienenschale lag das Bein so, daß das Kniegelenk gestreckt und das Sprunggelenk in leichter Plantarflexion fixiert wurde (130°). Die Schienen wurden an den Rattenbeinen angepaßt. Sie bestanden aus Kunststoff, welcher im erwärmten Zustand unter warmem Wasser auf die gewünschte Form moduliert werden konnte. Es wurde versucht die Schalen den individuellen Verhältnissen entsprechend anzupassen. Sie wurden dann noch mit Gaze-Streifen gepolstert, damit es zu keiner Verletzung der Tierextremität kommen konnte.

Das in die Schale gelegte rechte Bein eines jeden Tieres wurde zum Schluß mit festem Gewebeband mehrmals umwickelt. Um das Annagen des Verbandes der Tiere zu verhindern, führten wir eine Testung von verschiedenen Bitterstoffen durch, die dann auf den Verband aufgetragen wurden. Zum Schluß fanden wir ein Anti-Daumen-Lutsch-Mittel aus der Pädiatrie, "Daumexol", zufriedenstellend, das die Tiere abwies und somit die beste Prophylaxe für das Annagen bildete. Die Anwendung dieses in der Pädiatrie bewährten Mittels hat dazu geführt, daß die Verbände nicht täglich mehrmals erneuert werden mußten. Im Durchschnitt war das dann meistens in drei-tägigen Abständen erforderlich. Der Verband wog konstant 12 Gramm, ein Betrag, der etwa 6% des Tiergewichtes darstellt. Somit konnte ein Verhältnis Körpergewicht-Gipsgewicht erreicht werden, das etwa den Gegebenheiten in der Humanmedizin entspricht.

4.1.3. Schwellstromstimulation

Hierbei handelt es sich um eine Stromform, die durch Serien von kurzen Impulsen tetanische Kontraktionen auslöst. Diese Impulsserien sind amplitudenmoduliert; die Stromstärke der einzelnen Impulse steigt kontinuierlich bis zu einem Maximalwert an, um dann wieder abzufallen. In der vorliegenden Untersuchung

wurde der Maximalwert der Stromstärke (Spitzenstromstärke) mit etwa 1 mA so gewählt, daß sichtbare Muskelkontraktionen am behandelten Unterschenkel beobachtet werden konnten und die Tiere keine Schmerzüßerung zeigten.

Die dabei benutzte Impulsdauer wurde wegen der leichten Ansprechbarkeit von Muskeln, die normal innerviert werden, mit 1 msec relativ kurz gewählt. Die Zeit zwischen zwei Einzelimpulsen (Pausendauer) betrug 32 ms. Aus diesen beiden Werten ergibt sich eine Reizstromfrequenz von 30 Hz. Eine Impulsreihe (Schwellung) bestand aus 60 Einzelimpulsen und dauerte 2 sec, die Pause zwischen zwei Schwellungen betrug 4 sec. Hieraus resultierte eine Schwellfrequenz von 10 Schwellungen pro Min. Diese bedeutet, daß der m. gastrocnemius sich während der Behandlung 10 x in einer Minute kontrahierte. Behandelt wurde 6 Tage in der Woche, jeweils für 30 Minuten. Die Therapie erstreckte sich insgesamt über einen Zeitraum von 3 Wochen.

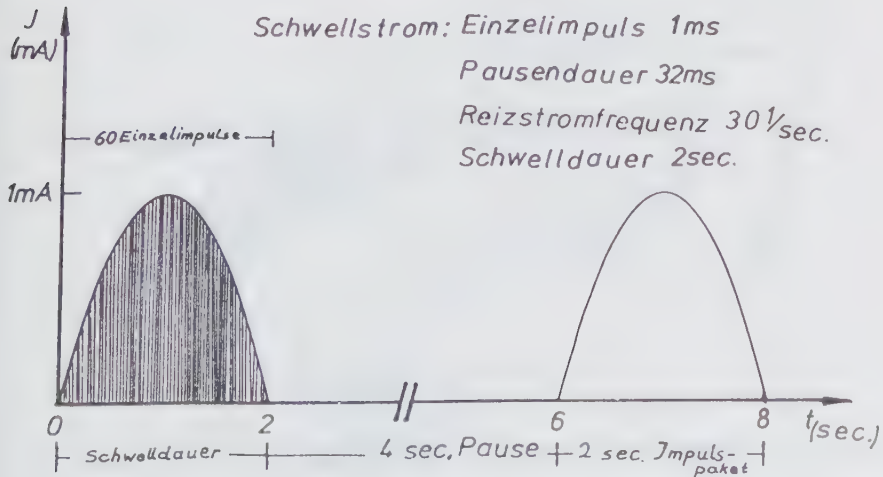


Abbildung 1: Darstellung des niederfrequenten Schwellstromes, der bei dem Experiment verwendet wurde.

Die Applikation des Reizstromes:

Die Applikation mit den herkömmlichen Plattenelektroden, wie sie aus der Humanmedizin bekannt sind, erwiesen sich bei den Ratten äußerst schwierig, da deren Extremitäten zu klein waren. Deshalb wurde bei unserem Versuch der Therapiestrom von den Kabelklemmen direkt über visköse Schwämmchen auf das Rattenbein geleitet. Die Schwämmchen hatten eine normierte Größe von 1 cm Breite, 0,8 cm Dicke und 10 cm Länge. Sie wurden mit warmem Leitungswasser angefeuchtet und am proximalen und distalen Ende des Verbandes angebracht. Die Schwammstreifen wurden fixiert, indem die beiden überstehenden Enden mit einer Klemme zusammengehalten wurden.



Abbildung 2: Darstellung des Fixations- und Stimulationsverbandes.

An der proximalen Elektrode wurde der positive und an der distalen Elektrode der negative Pol angebracht. Das Therapiegerät verfügte über eine stromkonstante Ausgangsschaltung (Constant Current-Gerät).

Dosierung der Schwellstromreizung (Hyperkinese).

Stromintensität

Die Behandlung wurde ohne Sedierung der Tiere nach Gewöhnung mit der im Wachzustand maximal tolerierten Stromintensität (0,5 - 1 mA pro cm²) durchgeführt. Diese Intensität bewirkte eine deutlich sichtbare Muskelkontraktion. Die Intensität wurde nach unterschiedlich langer "Einschleichzeit" soweit gesteigert, daß sich die Zehen den Schwellrhythmen entsprechend regelmäßig bewegten und in die ursprüngliche Ausgangssituation zurückstreckten.



Abbildung 3: Angebrachter Fixationsverband an der rechten hinteren Rattenextremität.

Die Stimulationszeit mit dem Schwellstrom belief sich demnach auf 30 Minuten x 6 Tage x 3 Wochen = 540 Min. Somit ergab sich eine Gesamtreizdauer von 9 Stunden mit dem Schwellstrom für die Versuchsperiode zur Verhinderung der Immobilisationsatrophie. Dieser Zeit gegenüber steht die Einwirkungsdauer der Immobilisation von 540 Stunden. Die Immobilisation erfolgte nämlich 24 Stunden 7 Tage lang in der Woche und 3 Wochen lang (24 Std. x 7 Tage x 3 Wochen = 540 Std.). Die Einwirkungszeit der konkurrierenden Reize war also deutlich unterschiedlich zugunsten der Immobilisation verschoben.

4.2. Histologische Verfahren

4.2.1. Herstellung von histologischen Schnitten

Am Ende des dreiwöchigen Versuches wurden die Tiere geopfert (Narkotin-Überdosis intraperitoneal injiziert). In tiefer Narkose wurden die m. gastrocnemii aus den linken und rechten Unterschenkeln der Versuchstiere entnommen. Die Wadenmuskeln sind in ihrem proximalen Anteil vom m. biceps femoris verdeckt, der große Beugemuskel des Unterschenkels mußte an seinen Ansätzen am Unterschenkel frei präpariert und hochgeklappt werden. Anschließend wurden die beiden freigewordenen Köpfe des m. gastrocnemius an condylus medialis bzw. condylis lateralis femoris und am Ansatz des Muskels in der Achillessehne oberhalb des Tuber calcanei abgelöst.

Konservierung der Gewebeproben:

Unmittelbar nach der Präparation wurde der m. soleus für die zu einem späteren

Zeitpunkt erfolgte histologische Aufbereitung konserviert. Zu diesem Zweck wurde die Methode der Schnellgefrierung mit flüssigem Stickstoff angewandt. Hierfür mußte der Muskel zunächst proximal des Überganges seines Muskelbauches in die Achillessehne mit einer Schere senkrecht zu einer Längsachse durchgeschnitten werden. Mit der so erhaltenen ebenen Grundfläche wurde das Präparat auf ein Korkplättchen aufgesetzt, das zuvor mit einem Gewebekleber (Gum Ragacanth) gleichmäßig beschichtet worden war. Der Muskel war nun wie ein aufrechter Zylinder ausgerichtet, wodurch später problemlos mit dem Mikrotomschneidegerät exakte Muskelquerschnitte hergestellt werden konnten.

Bei dem anschließenden Einfrieren war zur Vermeidung von Artefakten vor allem eine schnelle Abkühlung des Muskelpräparates notwendig. Dazu wurde das Präparat mit einer langstieligen Pinzette für 2 Minuten in ein mit 2-methyl-butan gefülltes Gefäß gehalten, das mit Hilfe von flüssigem Stickstoff auf eine Temperatur von -193°C gebracht wurde.

Das direkte Einbringen des Präparates in flüssigen Stickstoff ist zum schnellen Abkühlen ungeeignet, da sich auf der ganzen Oberfläche des Muskelgewebes eine feine Stickstoffgasschicht bildet, die dann eine Verlängerung der Einfrierungszeit verursacht. Im Anschluß an die Schnellgefrierung wurde das Präparat sofort in ein verschraubbares Plastikdöschen gegeben, das in flüssigem Stickstoff vorgekühlt worden war. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurde das Präparat in einem Gefrierschrank bei einer Temperatur von -80°C deponiert. Die Zeit von der Muskelentnahme bis zur Einbringung in 2-methyl-butan sollte 30 Minuten nicht überschreiten. In den vorliegenden Untersuchungen wurden dazu nie mehr als 5 Min. benötigt.

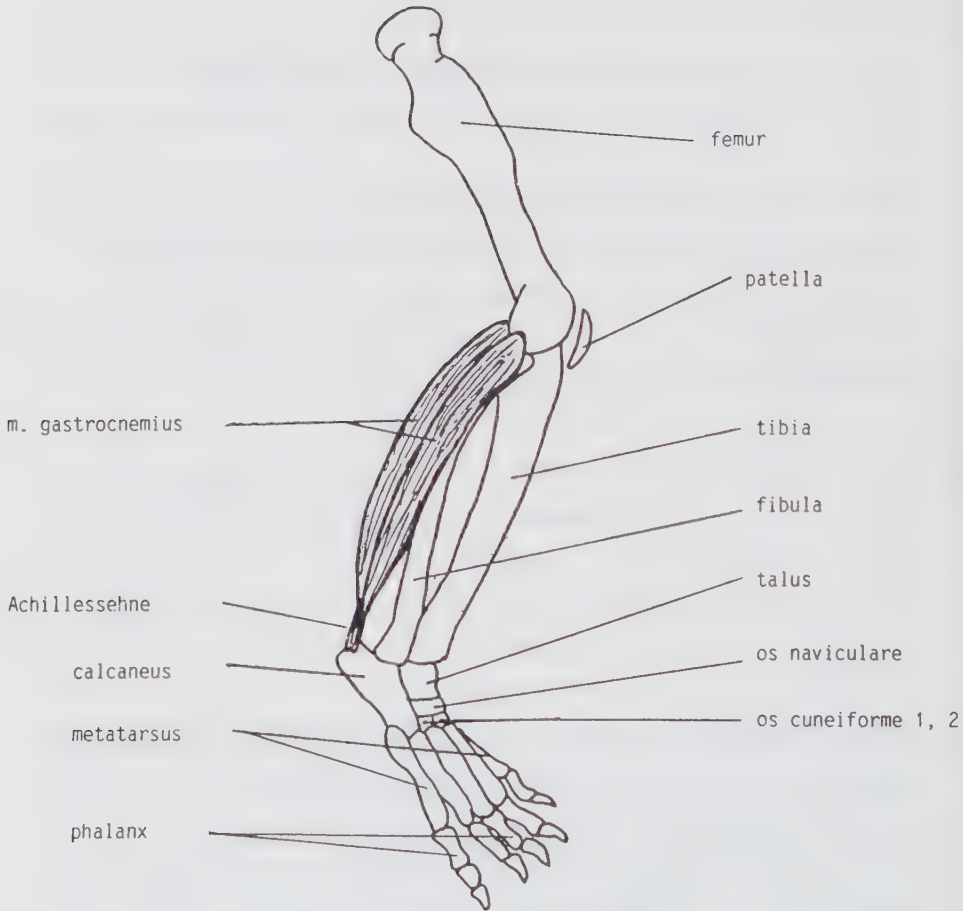


Abbildung 4: Skelett der rechten hinteren Extremität der Ratte.
Ursprung, Ansatz und Verlauf des m. gastrocnemius.
nach Hebel R. (1976)

Histologische Aufbereitung der Gewebeproben

Anfertigung von Gefrierschnitten (Aufblocken, Schneiden)

Aus den gefrorenen Gewebsschnitten wurden Gefrierschnitte angefertigt. Der Vorgang begann mit dem "Aufblocken" der auf Korkplatten angefrorenen Muskelproben. Mit Hilfe eines speziellen Klebstoffes (Tissuetek II oct. compound) wurden die Korkplatten mit den Muskelproben auf einen Metallstempel fixiert und in diesem Zustand am Schlitten des Microtomes befestigt. Die auf diese Weise fixierten Präparate fuhren dann mit dem motorisch angetriebenen Schlitten gegen das Messer des Microtomes. Das Schneiden erfolgte mit einem Microtom, welches in einen Kryostat der Firma American opticle montiert war. Die Schnittstärke betrug $10\text{ }\mu\text{m}$, sie wurde vom Messer mit Objektträger abgehoben. Die Temperatur im Kryostat betrug -20°C .

Die Abbildungen 5 - 8 zeigen die schematische Darstellung der Arbeitsschritte zur Herstellung von Gefrierschnitten.

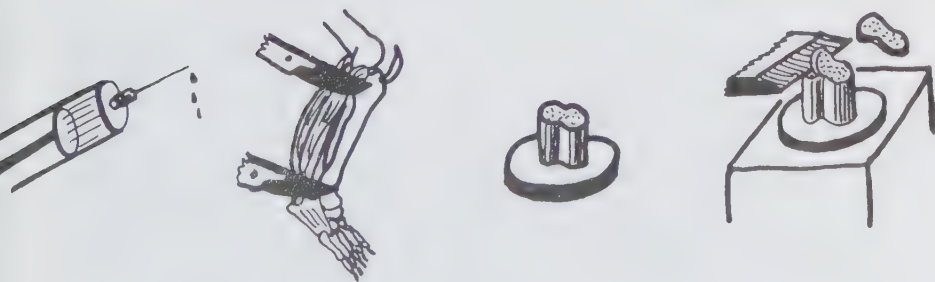


Abb. 5
Opfern der Tiere

Abb. 6
Präparation des
m. gastrocnemius

Abb. 7
Aufkleben der Probe
2-methyl-butan
(-193°C) und
Lagerung (-80°C)

Abb. 8
10 µm dicke Schei-
ben im Kryostat
(-20°C)

Die Gewebsschnitte sind auf den Objektträgern nach ihrer Fertigstellung eine Stunde lang unter Zimmertemperatur getrocknet worden. Gefrierschnitte haben gegenüber Paraffinschnitten den Vorteil, weniger zu schrumpfen (bei Paraffinschnitten wurden Reduzierungen des Faserdurchmessers bis 30% angegeben (JERUSALEM 1979) und daß durch das Einfrieren für die Färbung wichtige Enzyme erhalten bleiben.

4.2.2. Histochemische Faserdifferenzierung

Prinzip der Färbung

Zur Darstellung der beiden Muskeifaserarten Typ I und Typ II wurde ein histochemisches Verfahren benutzt, das ATP als Substrat verwendet und die Fasertypen bezüglich ihrer ATPase-Aktivität verschieden angefärbt. Das Prinzip dieser von DUBOWITZ und BROOKE (1973) beschriebenen Methode besteht darin, daß Muskelschnitte mit ATP und Calcium bei einem pH-Wert von 9,4 inkubiert werden, worauf die myofibrilläre ATPase des Muskelgewebes vom ATP jeweils ein Phosphat abspaltet, das sich mit Calcium zu Calciumphosphat verbindet. Letzteres ist bei alkalischem pH-Wert unlöslich, also am Ort der Enzymaktivität lokalisiert. Mittels Kobaltchlorid und Ammoniumsulfid wird Calciumphosphat in Kobaltphosphat und schließlich in das schwarz-braun erscheinende unlösliche Kobalt-Sulfid umgewandelt.

Beide Faserarten weisen eine qualitativ unterschiedliche ATPase auf. Die Muskelfasern vom Typ I besitzen eine "säurestabile" und "alkalilabile", die Muskelfasern vom Typ II eine "alkalistabile" und "säurelabile" ATPase. Dadurch ist es möglich, mit einem geeigneten pH-Wert in der Vollinkubation die ATPase eines Fasertypes weitgehend zu inaktivieren, wodurch dieser im Gegensatz zum Fasertyp mit der aktiven ATPase weniger intensiv gefärbt und deshalb heller dargestellt wird. Bei einem gegebenen pH-Wert bildet sich der unlösliche Farbstoff nur aus einer ATPase-Art. Entweder mit der säurestabilen ATPase der Typ-I-Fasern oder mit der alkalistabilen ATPase der Typ-II-Fasern. Somit entsteht nur bei einer Faserart ein unlöslicher Farbstoff, z.B. ergibt eine Färbung mit einer Vorinkubation bei einem sauren pH-Wert von 4,3 eine Dunkelfärbung von Fasertyp I (säurestabile ATPase) und eine helle Färbung des Fasertyps II (alkalilabile ATPase). In der nächsten Abbildung sind aus dem m. gastrocnemius die verschiedenen Muskelfaserarten mit der ATPase-Färbung bei Vorinkubation von pH 4,5 dargestellt.

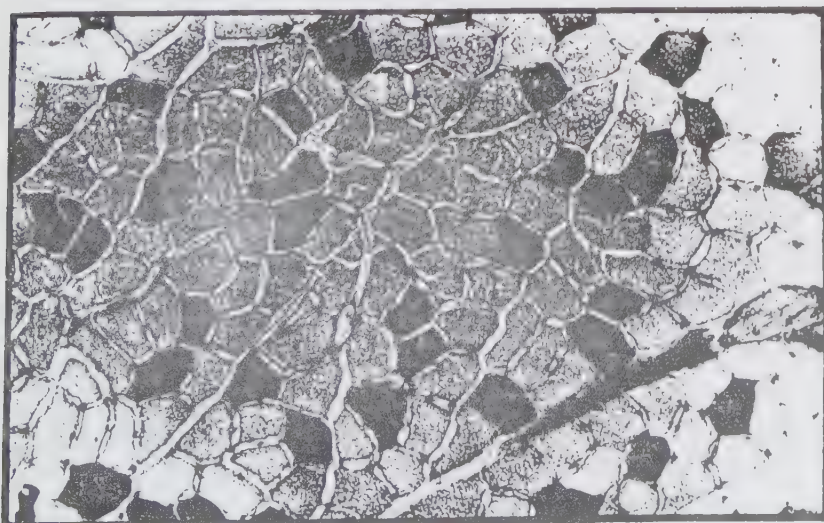


Abbildung 9: Darstellung des histologischen Muskelpräparates mit ATPase-Färbung.

4.3. Auswertung

4.3.1. Herstellung von Photographien

Zur Bestimmung des Faserumfanges sind fotografische Vergrößerungen von definierten Präparatschnitten gemacht worden. Die fotografischen Aufnahmen wurden mit einer automatischen Kleinbildkamera, die an das Mikroskop Univar der Firma Richter angeschlossen war, angefertigt. Die Abzüge wurden auf ein Format von 24 x 16 cm vergrößert und bildeten eine Originalmuskelfläche von 0,427 mm² ab.

Bei der optisch 300-fachen Vergrößerung entsprach 1 mm der Vergrößerung 3,33 µm. Die Verteilung der Muskelfaserarten in dem Querschnittsbild des m. gastrocnemius zeigte in Gruppen vorkommende Typ-I- und Typ-II-Fasern. In diesen Bereichen ließ sich das typische Schachbrettmuster erkennen.

Querschnitt durch den rechten M. gastrocnemius, M. plantaris und M. soleus
ATP ase - Färbung bei pH 4,35

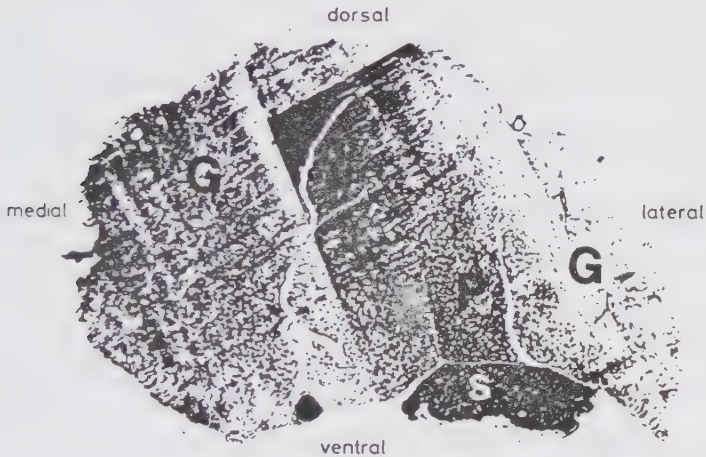


Abbildung 10: Darstellung eines Auswertungsabschnittes aus dem m. gastrocnemius.

4.3.2. Histometrie

Die Muskelfaserstärke wurde anhand des Muskelfaserumfanges der fotografierten Querschnittsdarstellungen der einzelnen Fasern mit einer Recheneinheit halbautomatisch ermittelt.

Vorgehen bei der Messung

Die im Diapositiv vorhandenen Ausschnitte aus Muskelpräparaten wurden auf die Meßplatte der Meßeinheit projiziert. Mit Hilfe eines Sensorstiftes wurde dann zunächst der Muskelumfang von 100 Zellen des Fasertyps I und dann der Muskelumfang von 100 Zellen des Typs II umfahren. Durch diese Manipulation registrierte das Gerät die umfahrene Strecke und es setzt diese in Zahlen bzw. Zahlenreihen um.

4.3.3. Statistische Auswertung

Statistische Merkmale der Zahlengruppen

Von jeder Zahlengruppe wurde der Mittelwert $\bar{x}$, Standardabweichung S_{x_i} und Standardabweichung des Mittelwertes $S_{\bar{x}}$ (= einfacher mittlerer Fehler des zugehörigen Mittelwertes) errechnet.

Dabei gelten folgende Formeln:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$S_{x_i} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$S_{\bar{x}} = \frac{S_{x_i}}{\sqrt{n}}$$

x_i = einzelne absolute Werte

n = Anzahl der Werte in einer Gruppe

Signifikanzberechnung

Durch den Student-t-Test für die Differenz zweier Mittelwerte aus unverbundenen Stichproben kann die Signifikanz errechnet werden.

Es wird eine Prüfgröße t ermittelt, für die folgende Formel gilt:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_{x_{i,1}}^2 (n_1 - 1) + S_{x_{i,2}}^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Das zugehörige Rechenverfahren (SACHS 1972) wurde auf einem Rechner TI-SR 52 einprogrammiert.

Jedem t-Wert kann aus einer Tabelle in Abhängigkeit von den Freiheitsgraden (= $n_1 + n_2 - 2$) ein p-Wert für den Grad der Irrtumswahrscheinlichkeit zugeordnet werden. Für statistisch signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden drei verschiedene Wahrscheinlichkeitsgrade festgelegt:

$0,01 < p \leq 0,05$	schwach signifikant
$0,001 < p \leq 0,01$	signifikant
$p \leq 0,001$	hoch signifikant

Bei diesen drei Fällen liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit bei 5%, 1% bzw. 0,1%. Dies bedeutet, es kann jedes 20ste, 100ste bzw. 1000ste als signifikant erklärte Ergebnis auch zufällig zustande gekommen sein. Diese drei Signifikanzschranken sind Grundlage aller im Ergebnisteil aufgeführten Signifikanzangaben.

5. Ergebnisse

In der vorliegenden Untersuchung gingen wir der Frage nach: "Wie verändert sich

der trophische Zustand der einzelnen Muskelfasern nach Immobilisation, und wie läßt sich die immobilisationsbedingte Faseralteration durch gleichzeitige Elektrostimulation beeinflussen?".

Zur Bestimmung des trophischen Muskelzustandes wählten wir den Parameter, Faserumfang, der getrennt für die beiden Hauptfaserarten ermittelt wurde.

Es waren zwei konkrete Fragestellungen zu beantworten:

- a. Wie läßt sich der Effekt der Immobilisation anhand des Parameters "Umfang" von Typ-I- und Typ-II-Fasern nachweisen?
- b. Wie läßt sich der Effekt der Schwellstromstimulation anhand der Veränderung des immobilisationsbedingten Effektes, d.h. anhand der qualitativen und quantitativen Veränderung der Immobilisationatrophie nachweisen?

Der Immobilisations- sowie der Stimulationseffekt ergeben sich aus signifikanten Differenzen geeigneter Vergleiche. Die entsprechenden Meßwerte zu vergleichen kann auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen, interindividuell und intraindividuell.

5.1.1. Darstellung der Mittelwerte

Bei den intraindividuellen Vergleichen werden die Faserdurchmesser-Mittelwerte von rechten manipulierten Beinen den Faserdurchmesser-Mittelwerten von den unbehandelten kontralateralen Beinen gegenübergestellt. Die Differenzen entstammen somit dem Vergleich der beiden Beine jedes einzelnen Tieres.

Tabelle 1

Darstellung der Meßergebnisse zu intraindividuellen Vergleichen in μm aus n Tieren, je Tier und Schnitt pro Fasertyp aus je 100 Umfangsmessungen

Versuchsgruppe	n	Faser- typ	linkes Bein $\bar{x}$	linkes Bein $s\bar{x}$	rechtes Bein $\bar{x}$	rechtes Bein $s\bar{x}$	d%
Immobilisation + Therapie	25	I	210,3	32,6	190,9	24,6	-9,2
		II	205,3	23,1	192,8	21,2	-6,1%
Immobilisation o. Therapie (XA3)	25	I	221,4	43,6	185,0	22,9	-16,4% (*)
		II	204,1	21,6	178,9	14,6	-12,3 (*)
Kontrolle (03)	20	I	194,4	25,1	194,4	25,1	
		II	197,3	23,7	197,3	23,7	

n = Anzahl der Einzelwerte

$\bar{x}$ = Umfangsmittelwert μ

$s\bar{x}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

$$d\% = 100 \times \frac{\bar{x} \text{ re.B.} - \bar{x} \text{ li.B.}}{\bar{x} \text{ li.B.}} \quad (\text{relative Abnahme in Prozent})$$

re.B. = rechtes Bein

li.B. = linkes Bein

* = signifikante Unterschiede

Bei den interindividuellen Vergleichen werden die Faserumfangs-Mittelwerte von rechten bzw. von linken Beinen aller Versuchstiere einer Versuchsgruppe mit den Umfangswerten der rechten bzw. linken Beine einer anderen Versuchsgruppe verglichen.

Tabelle 2

Darstellung der Meßergebnisse zu interindividuellen Vergleichen in μm aus n Tieren, je Tier und Schnitt pro Fasertyp aus je 100 Umfangsmessungen

Versuchs- bein	Faser typ	Versuchsgruppe Immobil. + Therap. (A3) n = 25		Kontrollgruppe Kontrolle (03) n = 20		d%
li.	I	210,3	+ 32,6	194,4	+ 25,1	+8,17%
	II	205,3	+ 23,1	197,3	+ 23,7	+4,05%
re.	I	190,9	+ 24,6	194,4	+ 23,7	-1,8%
	II	192,8	+ 21,2	197,3	+ 23,7	-2,3%
		Immobil. + Ø (XA3) n = 25		Kontrolle (03) n = 20		
li.	I	221,4	+ 43,6	194,4	+ 25,1	+13,8% (*)
	II	204,1	+ 21,6	197,3	+ 23,7	+3,4%
re.	I	185,0	+ 22,9	194,4	+ 23,7	-4,8%
	II	178,9	+ 14,6	197,3	+ 23,7	-9,3% (*)

n = Anzahl der Einzelwerte

l.B. = linkes Bein, r.B. = rechtes Bein

$\bar{x}$ = Mittelwert in μm

$s\bar{x}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

$$d\% = \frac{(\bar{x}\text{Versuchsgruppe} - \bar{x}\text{Kontrollgruppe})}{\bar{x}\text{Kontrollgruppe}} \times 100$$

* = signifikante Unterschiede

Die aus den verschiedenen Vergleichsmöglichkeiten resultierenden Differenzen zeigen unterschiedliche Absolutwerte. Des weiteren fand sich bei den interindividuellen Vergleichen ein kontralateraler Effekt für Fasertyp I (13,8%, Gruppe XA3 li. - Gruppe 0 li.).

Die rechts-links-Differenzen von den intraindividuellen Vergleichen können nicht berücksichtigt werden (siehe S. 42 und S. 48). Die Zunahme des Faserumfanges an dem nicht behandelten linken Bein (kontralateraler Effekt) vergrößert die durch die Atrophie des rechten Beines entstandene Umfangsdifferenz. Um die reale immobilisationsbedingte Abnahme des Faserdurchmessers am rechten Bein verifizieren zu können, dürfen Differenzen nur aus dem interindividuellen Vergleich berücksichtigt werden. Die Faserumfangs-Mittelwerte von rechten Beinen bzw. von linken Beinen einer anderen Gruppe, gegenübergestellt. Die graphische Darstellung zeigt die Faserdurchmesser-Mittelwerte von den verschiedenen Versuchsgruppen.

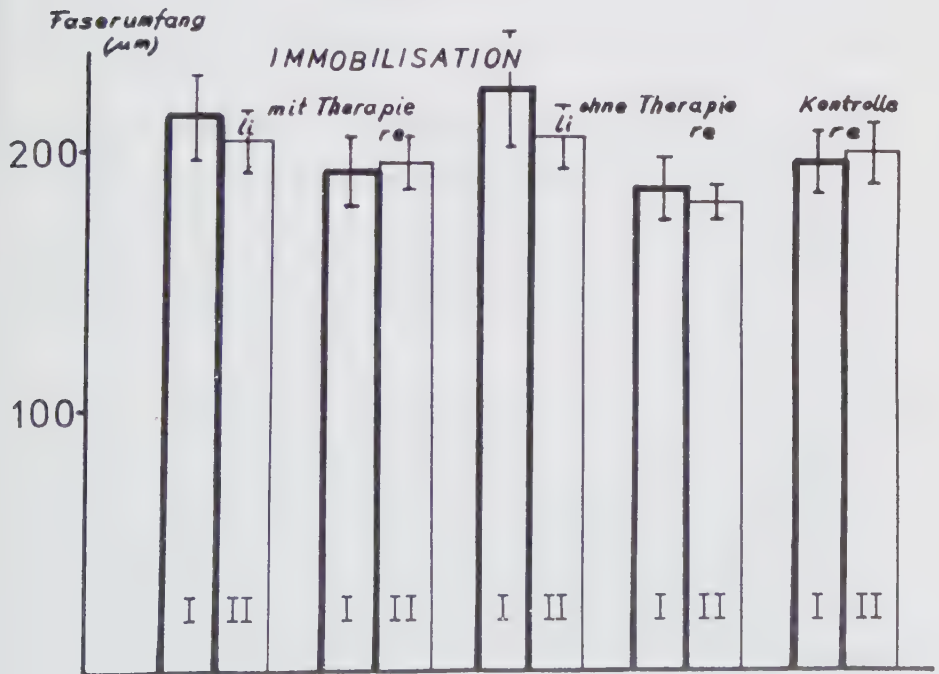


Abbildung 11: Darstellung der Faserumfangs-Mittelwerte von den verschiedenen Versuchsgruppen: getrennt nach Fasertyp I und Fasertyp II, sowie nach rechten und linken Beinen aus der Tabelle 2.

Die Interpretation der Ergebnisse:

Effekt der Hypokinese

Die Wirkung der experimentellen Immobilisation wurde an der Änderung des physiologischen Muskelzustandes anhand der Differenz der Mittelwerte des Faserumfangs von immobilisierten und unbehandelten Muskelgruppen geprüft.

Tabelle 3

Die relevanten Vergleiche:

- zum interindividuellen (*) Nachweis des homolateralen Effektes für Fasertyp I
 $((03 \text{ I re. } 194,4 \pm 25,1) - (XA3 \text{ I re. } 185,0 \pm 22,9) = 9,4 \pm \quad)$
entspricht etwa 4,8%
- Fasertyp II
 $((03 \text{ II re. } 197,3 \pm 23,7) - (XA3 \text{ II re. } 178,9 \pm 14,6) = 18,1 \pm \quad)$
entspricht etwa 9,32%

Der Unterschied ist nur bei Fasertyp II signifikant.

- zum interindividuellen Nachweis des kontralateralen Immobilisationseffektes für Fasertyp I
 $((XA3 \text{ I li. } 221,4 \pm 43,6) - (03 \text{ I li. } 194,4 \pm 25,1) = 27 \pm \quad)$
entspricht etwa 13,8% und für
- Fasertyp II

$$((\text{XA3 II li. } 204,1 \pm 21,6) - (03 \text{ II li. } 197,3 \pm 23,7)) = 6,8 \pm \quad)$$

entspricht etwa 3,4%

Der Unterschied ist nur bei Fasertyp I signifikant.

* Begründung der Anwendung von interindividueller Differenzbildung (siehe S. 42 und S. 48).

Die Aussage der Vergleiche

Der Muskelfaserumfang für Fasertyp II war bei den homolateralen (re.) Muskeln in der Gruppe der immobilisierten Tiere mit 4,8% (I) bzw. 9,3% (II) kleiner als bei den unbehandelten Muskeln. Der Unterschied war hier für Fasertyp II signifikant. Für Fasertyp I ergab sich kein statistisch gesicherter Unterschied.

In den kontralateralen linken Beinen war der Muskelfaserumfang für Fasertyp I mit 13,8% bei den immobilisierten Tieren (XA3 li.) signifikant größer als bei den unbehandelten Tieren (3,4%; 03 li.). Für Fasertyp II ergab sich kein Unterschied. Die signifikanten Veränderungen werden als Folge der Immobilisation als Effekt der Hypokinese gewertet.

5.1.3. Effekt der Schwellstromstimulation

Die Wirkung der Schwellstromstimulation ergibt sich aus den Veränderungen des Ausmaßes der immobilisationsbedingten Alterationen des Muskelfaserumfanges. Sie wurde rechts anhand der Differenz der Verringerungsrate des Umfanges von immobilisierten Muskeln mit und ohne Schwellstromstimulation, links an der Differenz der Umfangszunahme der entsprechenden kontralateralen Beine definiert.

Die relevanten Vergleiche:

- zum interindividuellen Nachweis des homolateralen Stimulationseffektes

Die Verringerungsrate des Muskelfaserumfanges (XA3 re.) der nur immobilisierten Muskeln war für

Fasertyp I etwa 4,8% und für

Fasertyp II etwa 9,3% (siehe auch oben).

Die Verringerungsrate des Muskelfaserumfanges (A3 re.) der immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Muskeln war für

Fasertyp I

$$((O3 \text{ I re. } 194,4 \pm 25,1) - (A3 \text{ I re. } 190,9 \pm 24,6)) = 3,5 \pm \quad)$$

entspricht etwa 1,8% und für

Fasertyp II

$$((O3 \text{ II re. } 197,3 \pm 23,7) - (A3 \text{ II re. } 192,8 \pm 21,2)) = 4,5 \pm \quad)$$

entspricht etwa 2,3%.

Die prozentuale Abnahme der Faserumfangswerte war weder für Fasertyp I noch für Fasertyp II signifikant.

Die Gegenüberstellung der Muskelatrophie der immobilisierten Beine mit und ohne Elektrostimulation ergab für

Fasertyp I

$$((A3 \text{ I re. } 190,9 \pm 24,6) - (XA3 \text{ I re. } 185,0 \pm 22,1)) = 5,9$$

es entspricht etwa 3,2% und für

Fasertyp II

$$((A3 \text{ II re. } 192,8 \pm 21,2) - (XA3 \text{ II re. } 178,9 \pm 14,6)) = 13,9$$

es entspricht etwa 7,8%.

Die Differenz der Verringerungsrate der immobilisierten Muskeln mit und ohne Elektrostimulation war für Fasertyp II signifikant.

- zum interindividuellen Nachweis eines kontralateralen Effektes wurden die Umfangswerte von den linken Beinen verglichen

Die Faserumfangswerte des linken Beines nahmen nach immobilisation des rechten Beines zu. Sie waren für

Fasertyp I

$$((XA3 \text{ I li. } 221,4 \pm 43,6) - (O3 \text{ I li. } 194,4 \pm 25,1) = 27 \pm 33)$$

es entspricht signifikant etwa 13,8% und für

Fasertyp II

$$((XA3 \text{ II li. } 204,4 \pm 21,6) - (O3 \text{ II li. } 197,3 \pm 23,7) = 10,8 \pm 18)$$

es entspricht etwa 3,4%.

Die Unterschiede waren nicht mehr signifikant.

Die Umfangszunahmen der li. mm. gastrocnemii waren bei den immobilisierten und zusätzlich schwellstromstimulierten Tieren für

Fasertyp I

$$((A3 \text{ I li. } 210,3 \pm 32,6) - (O3 \text{ I li. } 194,4 \pm 25,1) = 15,9 \pm 28)$$

es entspricht etwa 8,17% und für

Fasertyp II

$$((A3 \text{ II li. } 205,3 \pm 23,1) - (O3 \text{ II li. } 197,3 \pm 23,7) = 8 \pm 22)$$

es entspricht etwa 4,05%

Die Unterschiede waren hier nicht mehr signifikant.

Die Differenz von Umfangszunahme bei den kontralateralen Beinen von

immobilisierten Tieren mit und ohne Elektrostimulation in direktem Vergleich ergab für

Fasertyp I (Vergleich der d1 - d2)

$$((XA3 \text{ I li. } 221,4 \pm 43,6) - (A3 \text{ I li. } 210,3 \pm 32,6) = 11,1 \pm \quad)$$

es entspricht etwa 6,32% und für

Fasertyp II

$$((XA3 \text{ II li. } 204,1 \pm 21,6) - (A3 \text{ II li. } 205,3 \pm 23,1) = 1,2 \pm \quad)$$

Der Unterschied war nur für Fasertyp I signifikant.

Die Aussage der Vergleiche:

Die immobilisationsbedingte Muskelatrophie, gemessen am Umfang, war in der Gruppe der elektrostimulierten Tiere signifikant verringert im Vergleich mit den Muskeln der nur immobilisierten Tiere. An der homolateralen Seite atrophierte der immobilisierte m. gastrocnemius 3,8% (I) bzw. 7,8% (II) weniger in der schwellstromstimulierten Gruppe als in der Gruppe ohne Elektrostimulation. Der Unterschied war für Fasertyp II signifikant. An der kontralateralen Seite kam es zu einer Umfangszunahme der Muskeln. Hier fanden wir eine geringere Zunahme der Muskeln der elektrostimulierten Tiere. Die Umfangszunahme der stimulierten Tiere (am linken Bein) betrug 6,32% (I) und 1,2% (II) weniger als die Umfangszunahme der nicht stimulierten Tiere. Der Unterschied war für Fasertyp I signifikant.

Tabellarische Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse des Tierexperiments:

Tabelle 4

Ausmaß der Muskelatrophie an den homolateralen mm. gastrocnemii nach

Immobilisation ohne Elektrostimulation	Immobilisation mit Elektrostimulation	d%
Fasertyp I 4,8%	1,8 %	d = 3,8%
Fasertyp II 9,32% (*)	2,28%	d% = 7,8 (*)

Ausmaß der Hypertrophie an den kontralateralen (linken) mm. gastrocnemii nach

Immobilisation ohne Elektrostimulation (rechts)	Immobilisation mit Elektrostimulation (rechts)	d%
Fasertyp I 13,8% (*)	7,4 %	d = % = 6,4% (*)
Fasertyp II 3,4%	3,3 %	d% = 1,2%

* = signifikante Unterschiede

6. DISKUSSION

6.1. Das Ziel der Arbeit und ihre wichtigsten Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit hatte das Ziel, im Tierexperiment eine Methode zu finden und auf ihre Eignung zu testen, um die Immobilisationsatrophie der Skelettmuskulatur untersuchen zu können. Mit Hilfe dieses experimentellen Verfahrens sollte darüberhinaus untersucht werden, ob das Atrophieverhalten durch Elektrostimulation geändert wird. Die wesentlichen Ergebnisse des Versuches lassen sich im folgenden zusammenfassen. Die experimentelle Methode ist geeignet, empfindlich die Veränderungen der Muskelfaser durch Änderung des Muskeifaserumfanges zu zeigen. Es konnte anhand der Faserumfangswerte sowohl ein Effekt der Immobilisation als auch ein Effekt der Elektrostimulation nachgewiesen werden. Im weiteren fanden wir, daß die verwendeten physikalischen Reize wie Immobilisation und Elektrostimulation nicht nur lokal ihre Wirkung entfalteten, sondern auch an den nicht behandelten, kontralateralen Beinen. Ein weiteres wichtiges Resultat stellt das unterschiedliche Reagieren der Muskelfaserarten auf die experimentellen Reize dar. Das Atrophieausmaß war bei beiden Faserarten unterschiedlich. Die in unserem Versuch diagnostizierte faserspezifische Reaktion der Muskulatur auf die experimentellen physikalischen Reize ist ein wichtiger Befund, der im folgenden noch zu diskutieren sein wird.

Aus diesem Grunde sollten im folgenden einige Hinweise auf die Faserspezifität gegeben werden, bevor die quantitativen und qualitativen Muskelfaserveränderungen besprochen werden.

6.2. Faserspezifität

Die Muskulatur der Säugetiere und des Menschen ist uneinheitlich und setzt sich

in unterschiedlichem Ausmaß und in differenzierter Verteilung aus verschiedenen Muskelfasern zusammen. Damit läßt sich erklären, daß die Skelettmuskulatur - gleich ob makroskopisch oder mikroskopisch betrachtet - erhebliche lokalspezifische Eigenschaften aufweist. Die Unterschiedlichkeit der Skelettmuskulatur dürfte dem beobachtenden Menschen bereits in frühesten Zeiten aufgefallen sein, vermutet Krüger (1952).

Die erste wissenschaftliche Beschreibung verschiedener Faserarten stammt von Ranvier (1873, 1874, 1880). Er unterscheidet zwei Faserarten und zwar die "roten" und die "weißen" Muskelfasern und erkannte auch bereits den unterschiedlichen Funktionscharakter dieser zwei Muskelzellen. Besonders hervorzuheben wäre auch, daß er die Farbunterschiede nicht auf die unterschiedliche Blutversorgung zurückführte, wie viele nach ihm, sondern auf einen hypothetischen und spezifischen Farbstoff. Ranvier vermutete eine Verwandtschaft dieses Stoffes mit dem Blutfarbstoff Hämoglobin, was später auch bestätigt werden konnte. Die in dieser Zeit noch als modern geltenden Beobachtungen bestätigte nach gründlicher Analyse der Muskeln Grützer (1884). Die wissenschaftliche Erforschung der faserspezifischen Eigenschaften nahm damit ihren Anfang. Knoll (1889, 1891) unterschied aufgrund der Densität der Zellen "trübe" (rote) und "helle" (weiße) Fasern. Besonders gründlich und umfangreich waren dann die Untersuchungen von Krüger (1952), der von Fibrillenstruktur der "Tetanufasern" (weiße) und von Feldstruktur der "Tonusfasern" (rote Fasern) berichtete.

Die moderne Faserdifferenzierung erfolgt mit Hilfe von enzymatischen Untersuchungsmethoden. Ogota und Mori (1964), Stein und Padykula (1962) differenzierten drei Hauptfasertypen, doch es scheint wesentlich mehr zu geben.

Nach Untersuchungen von Romanul (1964) sind sieben verschiedene Fasertypen in drei Hauptgruppen eingeteilt worden. In der klinischen Routine werden heute aufgrund ihres Gehaltes an oxydativen bzw. glykolytischen Enzymen zwei Fasertypen unterschieden, die Typ-I- (niedrige ATPase-Aktivität, oxydative, rote oder langsame) und die Typ-II- (hohe ATPase-Aktivität, glykolytische, weiße oder schnelle) Fasern. Die verschiedenen Fasertypen zeigen erhebliche funktionelle Unterschiede. Die Typ-I-Fasern kontrahieren langsam und ermüden auch langsam, während die Typ-II-Fasern schnell kontrahieren und auch schnell ermüden.

Entsprechend der Funktionsaufgabe eines Muskels setzt er sich aus den verschiedenen Muskelfaserarten zusammen, um eine ökonomische Muskelarbeit zu sichern. Die Halte- oder Antischwerkraftmuskeln, die meistens knochenah lokalisiert vorkommen, haben einen höheren Betrag an tonischen, langsamen Typ-I-Fasern. Die schnellen, kraftentwickelnden Muskeln dagegen liegen oberflächlich und haben einen höheren Anteil an Typ-II-Fasern. Diese Wechselbeziehung gilt sowohl für die Ratte wie auch für den Menschen (Adriano 1973, Edgerton 1975).

Im Hinblick auf die unterschiedlichen anatomischen, biochemischen und funktionellen Eigenschaften der Muskelzelle ist eine differenzierte Reaktion der Muskelfasern auf einen physikalischen Reiz wie z.B. lokale Immobilisation oder Elektrostimulation zu erwarten. Übereinstimmend mit diesen Überlegungen stehen die Ergebnisse unserer Versuche.

6.3. Der Immobilisationseffekt

Der Effekt der Immobilisation läßt sich qualitativ und quantitativ definieren. Es kam zu einer Atrophie, deren Ausmaß bei Fasertyp I 4,8% (nicht signifikant)

und bei Fasertyp II 9,3% (signifikant) ausmachte.

Das Ausmaß der Immobilisation und die Faserspezifität der experimentell erzielten Muskelatrophie bestimmen u.a. die methodischen Besonderheiten der geplanten und die der tatsächlichen Immobilisation.

6.4. Die geplante und die tatsächliche Ruhigstellung des Rattenbeines
Es wurde ein Fixationsverband geplant, der einerseits eine konstante, relevante Atrophie erzielen sollte und andererseits nicht zu den stressbedingten, unerwünschten, lokalen und systemischen Effekten führen sollte. Wir legten großen Wert darauf, daß die Immobilisation ohne Narkose bzw. Sedierung der Tiere erfolgte und daß der Verband die Tiere nicht stärker belasten sollte. Wir versuchten ihn so zu gestalten, daß sich die Versuchstiere schnell daran gewöhnten und nach einigen Tagen der Fixationsverband die zirkadiane Tagesaktivität und die physiologische Entwicklung der Tiere nicht mehr beeinträchtigte. Wir erwarteten von dem Immobilisationsverband ein Atrophieausmaß um 20%, deutlich weniger als bei anderen bekannteren experimentellen Modellen, die z.B. beide Beine und das Becken oder sogar das ganze Tier fixieren (Boots 1973, Cooper 1972).

Wir erhofften auf diese Weise die immobilisationsbedingten Streßfolgen zu vermeiden. Im weiteren sollte der Muskelzustand des freigebliebenen, kontralateralen Beines ebenfalls untersucht werden. Da dieses Bein die ausgefallene Arbeit der ruhiggestellten Extremität beim Stehen und beim Fortbewegen im wesentlichen übernimmt, erwarteten wir Veränderungen im Sinne einer kompensatorischen Hypertrophie.

Die tatsächliche Immobilisation erfüllte bei dieser ersten Versuchsserie nicht die an sie gestellten Anforderungen. Das Hauptproblem lag darin, daß die Verbände das Bein nicht optimal fixierten. Die Gipsverbände wurden entweder zu locker angelegt und dadurch kam das Bein ungenügend zur Ruhigstellung oder der Verband lag zu eng an und es führte zur ödematösen Anschwellung der Extremitätenweichteile. Bei der ungenügenden Fixation kam es insbesondere zur Bewegung des Kniegelenkes, was die Ruhigstellung des m. gastrocnemius störte. Der Muskel überbrückt das Kniegelenk und inseriert am medialen und lateralen Condylus des Femurs.

Ein weiteres Problem war, daß die Fixationsverbände von den Tieren ständig angenagt wurden, weswegen sie laufend ausgebessert werden mußten. Diese ungünstige Situation hatte zwei Nachteile für den Versuch. Erstens wurde dadurch die kontinuierliche Hypokinese wiederholt unterbrochen, was auf den homolateralen Immobilisationseffekt Konsequenzen hatte, weil die Tiere u.U. kurzfristig ohne Immobilisation waren und zweitens durch die ständige Änderung des Gewichtes des Fixationsverbandes wurde die Mehrbelastung des nicht-immobilisierten Beines ungleichmäßig, was die Beurteilung des kontralateralen Effektes erschwerte.

Die Fehler, die aus der Fixationsmethode resultierten, konnten erst im Laufe des Versuches endgültig korrigiert werden, nachdem wir genügend Erfahrung beim Anbringen der Verbände gesammelt haben und das Überziehen der Gipsverbände mit einem Bitterstoff (Daumexol) eingeführt haben. Erst dann ist es möglich geworden, das vorausgeplante Atrophieausmaß von etwa 24% bei allen Versuchstieren zu erzielen.

6.5. Faserspezifität des homolateralen Immobilisationseffektes

Unsere Ergebnisse zeigten, daß die Muskelatrophie in unterschiedlichem Ausmaß die beiden Muskelfaserarten betroffen hat. Es fand sich eine Muskelatrophie von 4,8% (I) und von 9,8% (II). Die vermehrte Abnahme der Typ-II-Fasern ist bei einer einfachen (d.h. ohne Weichteilverletzungen) Extremitätenruhigstellung ungewöhnlich. Daher sollen kurz die immobilisationstypische Faserspezifität und anschließend die möglichen Gründe für die Typ-II-Faseratrophie abgehandelt werden.

Die Ruhigstellung der Extremitätenmuskulatur bewirkt nach der heutigen Auffassung mindestens zwei wichtige, die Faserarten betreffende Veränderungen. Zum einen kommt es zu einer Atrophie der Typ-I-Fasern und zum anderen entsteht eine relative Zunahme der Typ-II-Fasern (siehe unten).

Die Typ-I-Muskelatrophie, eine vermehrte Schädigung der langsamen oder "roten" Fasern, ist bereits bei der Immobilisation aufgrund theoretischer Überlegungen zu erwarten. Die Typ-I-Fasern sind in erster Linie für die langsame, Ausdauerleistung fordernde Muskelearbeit wie z.B. das Tragen des Körpergewichtes verantwortlich. Sie sorgen für die Aufrechterhaltung des Körpers, für die Sicherung der Ausgangsstellung aller vitalen Aktivitäten. Durch die Immobilisation wird der Muskel in erster Linie in diesen seiner Aufgaben behindert. Die Abnahme der Haltearbeit führt zur gleichzeitigen Reduzierung des den trophischen Zustand unterhaltenden Reizes und damit zur Entwicklung einer Atrophie der Typ-I-Fasern. Diese theoretischen Überlegungen sind experimentell mehrfach belegt worden. Die vermehrte Vulnerabilität der Typ-I-Fasern gegenüber einfacher Immobilisation ist wiederholt in Tierexperimenten bestätigt worden (Cooper 1972, Edgerton 1975, Ferguson 1957, Karpati 1968, Meier 1972, Summers

1951, Tomanek 1974). Untersuchungen am Menschen haben ebenfalls eine vermehrte Typ-I-Atrophie bei unkomplizierter Ruhigstellung erbracht (Edström 1970, Sargeant 1977).

Ein weiterer in Betracht zu ziehender Effekt der Immobilisation scheint die relative Zunahme der Typ-II-Fasern zu sein. Das Verhältnis der Typ-I-Fasern zu den Typ-II-Fasern ist insbesondere bei Tiermuskeln recht unterschiedlich, aber auch beim Menschen zeigt sie erhebliche muskelspezifische Abweichungen. Die Kenntnis der Faserrelation von immobilisierten Muskeln vor und nach Ruhigstellung ist zur Beurteilung des jeweiligen faserspezifischen Immobilisationseffektes unbedingt erforderlich. Die spezifischen Eigenschaften der verschiedenen Muskelfasern sind nach den neuesten Erkenntnissen nur bis zu einem bestimmten Grade genetisch fixiert. Sie können sich in einem noch heute unbekannten Ausmaß in Richtung der anderen Faserart verändern. Möglicherweise ist auch diese Fähigkeit der Muskelzellen faserspezifisch bedingt. Eine Faserumwandlung dürfte demnach als eine Art Adaptation auf verschiedene endogene und exogene Reize angesehen werden. Der klassische experimentelle Nachweis der Faserumwandlung ist von Close 1964 erbracht worden. Der Versuch wurde an den Hinterbeinen von Kaninchen durchgeführt. Nach operativer Freilegung der Motoneuronen vom langsamen m. soleus und vom schnellen m. tibialis anterior erfolgte die Durchtrennung der beiden Nerven. Den proximalen Abschnitt des schnellen Motoneurons verband Close mit dem distalen Abschnitt des langsamen Motoneurons und der freibleibende proximale, langsame Motoneuronabschnitt wurde mit dem distalen Abschnitt des schnellen Motoneurons vernäht.

Auf diese Weise bekam der langsame Muskel durch Kreuzinnervation seine zentrale Regulation von einem schnellen Motoneuron und die schnelle Muskelfaser wurde

entsprechend vice versa innerviert. Unter diesen Bedingungen kam es zur fundamentalen Änderung des ursprünglichen Fasercharakters bei den Muskelfaserarten. Die langsam kontrahierenden (roten) Muskelfasern wurden schnell kontrahierende und die schnelle Kontraktion zeigenden (weißen) Muskelfasern wurden langsame Fasern. Für diese Umwandlung der Muskelzellen scheint die zentrale Entladungsfrequenz verantwortlich zu sein, die durch das Motoneuron zu den Muskelfasern geleitet wird. Die Alteration der Muskelfasern in dieser experimentellen Anordnung ist mehrfach überprüft worden, nicht nur anhand der physiologischen Parameter, sondern auch durch das Verhalten von biochemischen und morphologischen Fasereigenschaften. Die Faserumwandlung ist unter experimentellen Bedingungen heute allgemein akzeptiert. Spätere Untersuchungen zeigten, daß sowohl durch Elektrostimulation als auch durch Änderung des Bewegungsmusters in gewissem Umfang die Muskelzellen ihre charakteristischen Eigenschaften zu verändern vermögen. Da die Hypokinese eine Änderung des Bewegungsmusters darstellt, ist die Möglichkeit der Faserumwandlung nach Immobilisation gegeben.

Es sprechen einige tierexperimentelle Untersuchungen dafür, daß Typ-I-Fasern nach Ruhigstellung in gewissem Umfang in Typ-II-Fasern übergehen. Das Verhalten der Typ-I-Fasern gegenüber Immobilisation wurde in einem überwiegend aus dieser Faserart bestehenden Muskel in dem m. soleus untersucht. Nach Ruhigstellung vergrößerte sich der Anteil der ansonst spärlich vorkommenden Typ-II-Fasern im m. soleus beträchtlich (Booth 1977, Herbison 1979). Einen weiteren Hinweis zur möglichen Zunahme der Typ-II-Fasern nach Immobilisation liefern Versuchsergebnisse, bei welchen parallel zu histochemischen Untersuchungen die Veränderungen der Kontraktionszeit untersucht wurden. Es fand sich, daß die Typ-I-Fasern im m. soleus nach Immobilisation weniger geworden waren, während

die relative Anzahl der Typ-II-Fasern deutlich zugenommen hat. Mit dieser Veränderung korrelierte gleichzeitig die Verminderung, die Abnahme der Kontraktionszeit. Diese Alteration wird mit der Umwandlung der muskelspezifischen langsamen Fasern in schnell kontrahierende Fasern nach Immobilisation erklärt (Crockett 1975, Fischbach 1969, Tabary 1972, Salmons 1969).

Die Voraussetzung einer Aussage von Faserumwandlung ist, daß die Anzahl der Muskelfasern im untersuchten Muskelbereich nach Immobilisation konstant bleibt. Es ist heute experimentell ausreichend belegt, daß die Faseranzahl nach Immobilisation unverändert bleibt (Cardenas 1976, Cardenas 1977).

Eine Veränderung der Faseranzahl ist auch durch Alterung nicht zu erwarten. Die endgültige Faseranzahl entwickelt sich einige Monate nach der Geburt und bleibt dann für die weitere Zeit konstant (Goldsping 1978).

Wenn also die absolute Anzahl der Muskelfasern gleichbleibt, kann die Zunahme der Typ-II-Fasern auf zwei verschiedenen Wegen erfolgen. Entweder ist die prozentuale Verschiebung des Faserverhältnisses zugunsten der Typ-II-Fasern, die Transformation der oxydativen Fasern (Typ I) in glykolytische Fasern (Typ II) verantwortlich, oder es kommt zu einer Degeneration der Typ-I-Fasern und zu einem simultanen Wachstum von Typ-II-Fasern. Morphologische Hinweise für eine Degeneration der Typ-I-Fasern waren bei unseren Präparaten nicht zu finden. Wie bereits oben erwähnt, entwickelte sich nicht einmal eine Atrophie der Typ-I-Fasern.

6.6. Erklärungen für die Typ-II-Faseratrophie

Auf der Suche nach der Erklärung der Typ-II-Atrophie kann die Möglichkeit des Überwiegens oder des isolierten Vorhandenseins dieser Faserarten im untersuchten Gewebsabschnitt nicht ausgeschlossen werden. Es ist vorstellbar, daß z.B. nach Verschiebung des Faserverhältnisses zu wenig Typ-I-Fasern im Gesichtsfeld zu finden waren. Der untersuchte Gewebsbereich besteht dann überwiegend aus den kleineren Typ-II-Fasern. In diesem Falle handelt es sich nicht um eine Typ-II-Atrophie, sondern nur um eine Atrophie eines von Typ-II-Fasern beherrschten Gewebsbezirkes.

Die gleiche Situation könnte auch durch einen möglichen methodischen Fehler entstanden sein. Die Gewebsproben für die histologischen Untersuchungen sind aus dem lateralen Anteil des m. gastrocnemius entnommen worden. Der Muskel zeigt in diesem Bereich nach unseren eigenen Stichproben, aber auch von Untersuchungen von Romanul (1964) gleichmäßige muskelspezifische Faserverteilung. Somit ist eine genaue Beachtung der Biopsiestellen in dieser Muskelpartie nicht unbedingt notwendig. Das Begrenzen der Gewebsentnahmestelle, wie wir es gemacht haben, ist bereits eine nicht allgemein übliche methodische Genauigkeit. Trotz dieser relativ genauen Lokalisation der Gewebsentnahmeposition könnte es doch zu Ungenauigkeiten gekommen sein. Spätere Untersuchungen - die wegen Unregelmäßigkeit der Ergebnisse angesetzt wurden - haben ergeben, daß bei den verwendeten Versuchstieren eine gleichmäßige Faserverteilung nur bedingt vorzufinden war. Durch Differenzierung der Muskelfasern (ATP, 4,5 pH) an flächendeckenden histologischen Schnitten konnte gezeigt werden daß an peripheren Muskelanteilen fast ausschließlich Typ-II-Fasern im m. gastrocnemius (siehe Abb. S. 31) zu finden waren. In anderen Gebieten dagegen, vor allem zentralwärts, lassen sich inselförmige Verdichtungen von Typ-I-Fasern,

Anhäufungen von dieser Faserart erkennen. Sind die Gewebeproben zum Teil oder ausschließlich aus den Randbezirken, aus den Fasertyp-II-bestehenden Bereichen entnommen worden, so wird auch hier zwangsweise nur eine Typ-II-Faseralteration zu finden sein. Wegen des Fehlens der Typ-I-Fasern im Untersuchungsbereich kann keine statistische Aussage über das Verhalten dieser Faserart gemacht werden.

Als Erklärung für die Typ-II-Faseratrophie konnte die vermehrte Vulnerabilität der glykolytischen Faserart auf die Immobilisationstechnik angeführt werden.

Wir haben bereits erwähnt, daß der Immobilisationsverband in den meisten Fällen insuffizient war und zu Verletzungen, zu eitrig-ödematösen Weichteildefekten führte. Wegen dieser Affektionen waren wir des öfteren gezwungen, den Immobilisationsverband vorübergehend zu lockern oder sogar ihn zu entfernen. In diesen Fällen kam es zur schmerzbedingten Ruhigstellung der Extremitäten. Während wir heute annehmen dürfen, daß auf eine einfache Immobilisation vor allem die Typ-I-Fasern mit Atrophie reagieren, bestehen zahlreiche experimentelle und klinische Hinweise dafür, daß bei allen anderen Affektionen eher die Trophik der Typ-II-Fasern beeinträchtigt wird (Pongratz 1976). Eine faserspezifische Atrophie mit Beeinträchtigung der Typ-II-Fasern wird auch beim Menschen mit gleichzeitigem Vorhandensein von großen Weichteilverletzungen aufgrund bioptischer Untersuchungen angegeben (Engel und Brooke 1966). Somit könnte die Typ-II-Faseratrophie als Konsequenz der entzündlichen Veränderungen mit zusätzlicher Ruhigstellung angesehen werden.

Veränderungen des trophischen Zustandes lassen sich nicht nur an den immobilisierten Muskeln, sondern auch an den unbehandelten kontralateralen Beinen nachweisen. Es fand sich an den gegenseitigen, nicht ruhiggestellten

Beinen der Versuchstiere eine Hypertrophie des Wadenmuskels. Die Zunahme des Muskelfaserumfanges erfolgte nicht im gleichen Ausmaß bei den verschiedenen Fasertypen.

6.7. Der homolaterale Stimulationseffekt

Die Behandlung wurde mit geschwelltem Neofaradischem Strom durchgeführt, obgleich trophische Effekte fast allen Formen des niederfrequenten Reizstromes nachgesagt werden. Die Stromform wählten wir, da aufgrund empirischer Erkenntnisse vor allem diese Stromform zur Behandlung der Immobilisationsatrophie als besonders geeignet angesehen wird (Drexel 1978, Jansch 1980, Dungal W. 1979). Der motorisch reizende faradische Strom, insbesondere wenn er in geschwellter Form zur Anwendung kam, zeigt große Ähnlichkeiten mit den physiologischen Muskelzucken bei Ausführung von Extremitätenbewegungen. Es ist theoretisch gut vorstellbar, daß die durch eine Elektrostimulation erzielte artifizielle Muskelaktivität ausreicht, die Entwicklung der Muskelatrophie zu verhindern. Aus diesem Grund ist die Durchführung von Versuchen zur Prophylaxe der Muskelatrophie mit Elektrostimulation gerechtfertigt.

Es ist eine alte klinische Erfahrung, daß die Funktion der Muskulatur vor allem in den ersten 10 Tagen der Ruhigstellung abnimmt. An dem Parameter Weichteilveränderung des Kaninchenschenkels ist die Atrophieentwicklung und die Rückbildung der Atrophie von verschiedenen Immobilisationszeitpunkten ab experimentell bestimmt worden (Rosemeyer 1977). Diese tierexperimentellen Untersuchungen entsprechen den klinischen Beobachtungen. Somit ist desto mehr mit einer erfolgreichen Atrophieprophylaxe zu rechnen, je früher mit der Stimulation der atrophierenden Muskeln begonnen wird. Zur Prophylaxe der

Immobilisationsatrophie ist wiederholt ein möglichst frühzeitiger Beginn der Elektrostimulation für notwendig erachtet worden (Edel 1975, Guttman 1962).

Der Effekt der Elektrostimulation ergibt sich aus der Differenz des Atrophieausmaßes von immobilisierten Muskeln mit und ohne Elektrostimulation. Die Ergebnisse zeigten eindeutig, daß die stimulierten, immobilisierten Muskeln ein geringeres Atrophieausmaß zeigten als die nicht behandelten, ebenfalls aber immobilisierten Muskeln. Die Differenz fiel faserspezifisch aus, sie betrug für Fasertyp I 3,8% (nicht signifikant) und für Fasertyp II 7,8% (signifikanter Unterschied). Die den Differenzen zugrundeliegenden Atrophieausmaße sind in der tabellarischen Darstellung angegeben (S. 36).

Bei diesen Ergebnissen fiel wieder auf, daß die Stimulation einen faserspezifischen Effekt erzielte. Sie verhinderte die Atrophie der Typ-I-Fasern ohne eine signifikante Änderung der Typ-II-Fasern erzielt zu haben. Auch bei diesem Effekt bleibt die Frage offen, ob das Nichtreagieren der Typ-I-Fasern auf den physikalischen Reiz Immobilisation und Elektrostimulation aus unseren speziellen experimentellen Anordnungen resultiert oder einen realen Effekt darstellt.

Die Reizung erfolgte analog der klinischen Behandlungspraxis. Bei der Wertung des Ausmaßes von Stimulationseffekten ist zu berücksichtigen, daß wir durch unsere Versuchsanordnung nicht eine optimale Reizung der Muskulatur beabsichtigt haben, sondern eine Reizung, die sich möglichst genau an die klinische Routinebehandlung anlehnt.

Wir wollten in erster Linie orientierende Hinweise darauf erhalten, ob und in

welchem Ausmaß mit einem trophischen Effekt gerechnet werden kann und zwar nach einer Stimulationsweise, wie sie allgemein in der täglichen Praxis verabreicht wird. Der verhältnismäßig günstige Effekt dürfte - wie noch später angedeutet wird - nicht als obligatorische Wirkung der Elektrostimulation des immobilisierten Muskels angesehen werden. Vielmehr handelt es sich dabei um lokalspezifische Effekte, die u.a. durch zwei experimenteigene Faktoren zustandekommen könnten. Die histologische Untersuchung erfolgte aus oberflächlich, peripher liegenden Muskelzellen. In diesem Gewebsbereich dürfte der Strom am ehesten eingedrungen sein. Über die Eindringtiefe und die Stromverteilung ins Gewebe haben wir genauso wie in der klinischen Praxis keine exakten Kenntnisse. Bei der Reizung wurde die submaximal tolerierte Stromstärke der nicht sedierten und nicht narkotisierten Tiere zur motorischen Reizung verwendet. Im Hinblick auf das Verhältnis der zirkulär angebrachten Elektroden und des geringen Volumens des gereizten Weichteilmantels der Extremitätenabschnitte ist ein wirksamer Stromfluß während der Stimulation anzunehmen.

6.8. Beziehung zwischen Atrophieausmaß und Wirksamkeit der Atrophieprophylaxe:

Ein weiterer Faktor, der in unserem Versuch wahrscheinlich zu einer guten prophylaktischen Wirkung der Elektrotherapie beigetragen hat, war das geringe Atrophieausmaß, das aus der insuffizienten Ruhigstellung resultierte.

Wie oben beschrieben, scheint für das Wiedererreichen des ursprünglichen trophischen Zustandes von dem Atrophieausmaß bzw. von der Immobilisationszeit abhängig zu sein. Nach der heutigen Vorstellung verlängert sich die Remobilisationszeit exponential mit der Zunahme der Immobilisationszeit bzw. mit dem Immobilisationsausmaß (Rosemeyer 1977). Bei stärkerer Immobilisation, wie es eigentlich durch

die einwandfreie Ruhigstellung vorgesehen war, dürfte der gleiche Stimulationsreiz - nach den genannten Überlegungen - einen geringeren therapeutischen Effekt erzielt haben.

Die Möglichkeit eines faserspezifischen Stimulationseffektes wird anhand der Ergebnisse angenommen, zumal die differenzierte Reaktion im Hinblick auf die unterschiedlichen Fasereigenschaften zu erwarten wäre.

6.9. Die Folgen unterschiedlicher Stimulationsfrequenzen

Experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, daß die zentrale Entladungsfrequenz die Fasereigenschaften wesentlich beeinflussen kann und sogar eine Umwandlung zu bewirken vermag. Daraus resultieren zwei wichtige Konsequenzen für die Beurteilung des Stimulationseffektes. Der therapeutische Reiz müßte im Frequenzbereich der zentralen Entladungsfrequenz und "Feuerungsfrequenz" liegen, um die individuelle Fasertrophik erhalten zu können. Liegt sie darüber oder darunter, kann es zu einer Verschiebung der Muskelfasereigenschaften kommen. Diese Tatsache ist der zweite wichtige Faktor bei der Beurteilung des trophischen Effektes.

Wenn also die Stimulationsfrequenz nicht faserspezifisch ist, kann es zur Faserumwandlung, nicht aber unbedingt zur Hypertrophie des betroffenen Muskels führen. Das bedeutet, daß ein positiv trophischer Effekt nicht bei allen Frequenzen, sondern nur nach Reizung mit ganz speziellen Frequenzbereichen optimal sein dürfte.

6.10. Faserspezifische Umfangszunahme nach Elektrostimulation

Die Eigenschaft der Umfangszunahme eines jeden Muskels ist unterschiedlich und

genetisch (z.T.) vorbestimmt. Im weiteren muß man noch erwähnen, daß die Umfangszunahme nach Mehrbelastung wie z.B. Änderung des aufgezwungenen Bewegungsmusters oder nach Elektrostimulation, keineswegs eine allgemein gültige Eigenschaft der Muskelzellen ist. Während die Belastungszunahme bei den Typ-II-Fasern die Zunahme der kontraktile Elemente bewirkt, führt dieselbe Belastung der Typ-I-Fasern in erster Linie zu einer Vermehrung der Mitochondrien. Im ersten Falle kommt es daher zu einer Umfangszunahme der Muskelfasern, während im zweiten Fall die Muskelfaserstärke unverändert bleibt oder sogar abnehmen kann. Die unterschiedliche Entwicklung der Muskelmasse nach Verbesserung des trophischen Zustandes von verschiedenen Fasertypen kommt besonders deutlich zur Erscheinung, wenn die Muskelreliefe von solchen Spitzensportlern verglichen werden, die unter extrem faserspezifischem Training stehen. Die Muskeln der Marathonläufer werden auf Ausdauerleistung trainiert. Eine unermüdliche, gleichmäßige Muskelarbeit wird bei dieser Sportdisziplin verlangt. Diese Muskelarbeit wird vor allem von den Typ-I-Fasern ausgeführt.

Durch das Training werden die "roten" (I) oder oxydativen Fasern in ihren optimalen trophischen Zustand gebracht. Die Muskelmasse nimmt dabei keineswegs zu, es kann sogar gelegentlich zur Abnahme dieser führen. Dagegen finden wir bei diesen Muskeln eine deutliche Zunahme der Anzahl von den Mitochondrien. Anders ist der trophische Zustand der Muskeln der Gewichtheber, deren Muskeln in kürzester Zeit große Kraftanforderungen bewältigen müssen. Diese Art von Muskelarbeit entspricht den Typ-II-Fasern. Das Training der "weißen" (II) oder glykolytischen Fasern bewirkt - im Gegensatz zum Typ-I-Fasertraining (Marathonlauf) - eine Zunahme der kontraktile Elemente und damit eine Zunahme der Muskelfaserstärke bzw. der gesamten Muskelmasse. Aus den oben genannten Unterschieden vom faserspezifischen trophischen Verhalten der Muskeln geht

hervor, daß eine Umfangszunahme im engsten Sinne nur durch Mehrbelastung der Typ-II-Fasern zustande kommen kann. Soll die Beurteilung eines physikalisch-therapeutischen Verfahrens durch den Parameter Muskelumfangszunahme erfolgen, muß u.a. der Typ-II-Faseranteil in dem betreffenden Muskel berücksichtigt werden. Im weiteren muß geklärt werden, ob der therapeutische Reiz zur Eignung gerade dieser Typ-II-Fasern geeignet ist.

7. Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wurde der Versuch unternommen, zu zeigen, ob Reizstrom geeignet ist, das Atrophieausmaß des musculus gastrocnemius der Ratte unter Immobilisationsbedingungen zu verringern. Es wurde dabei davon ausgegangen, der Muskelfaserumfang sei ein Maß für die Trophik der Faser. Zunächst wurde eigenständig eine Methode gefunden, die geeignet ist, ähnlich einem Gipsverband, eine Verringerung des Muskelfaserumfanges zu erzeugen. Anhand der Bildung von drei verschiedenen Kollektiven konnte gezeigt werden, daß im Vergleich zu immobilisierten, unbehandelten Tieren die Umfänge der Muskelfasern der gastrocnemii unter gleichzeitiger Elektrotherapie eine signifikant geringere Abnahme zeigten. Es konnte eine geringgradige atrophieprophylaktische Wirkung der Elektrostimulation auf die vorwiegend "weißen" Muskelfasern nachgewiesen werden.

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Darstellung des niederfrequenten Schwellstromes für vorliegende Arbeit
- Abb. 2: Darstellung des Fixations- und Stimulationsverbandes
- Abb. 3: Angebrachter Fixationsverband an der rechten hinteren Rattenextremität
- Abb. 4: Darstellung der anatomischen Lage von dem m. gastrocnemius der Ratte
- Abb. 5-8: schematische Darstellung der Arbeitsschritte zur Herstellung von Gefrierschnitten
- Abb. 9: Histologisches Muskelpräparat mit ATPase-Färbung
- Abb. 10: Auswertungsabschnitt aus dem m. gastrocnemius
- Abb. 11: Faserumfangsmittelwerte der verschiedenen Versuchsgruppen, nach Fasertypen getrennt

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1: Meßergebnisse des Muskelfaserumfanges im intraindividuellen Vergleich
- Tab. 2: Die Meßergebnisse im interindividuellen Vergleich
- Tab. 3: Die relevanten Vergleiche zum interindividuellen Nachweis des
- homolateralen Effektes für Fasertyp I und II
 - kontralateralen Immobilisationseffektes für Fasertyp I und II
- Tab. 4: Tabellarische Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse des Tierexperiments

Lebenslauf

Als zweites Kind meiner Eltern Georg und Susanne Beer wurde ich am 28.05.1952 in Memmingen geboren. Nach dem Tod meines Vaters im April 1953 siedelte meine Mutter, die fortan verwitwet blieb, nach Pfarrkirchen in Niederbayern um.

Dort besuchte ich von 1958 bis 1962 die Volksschule. Von 1962 bis 1965 war ich im Volksschulinternat in Ortenburg. Nach weiteren vier Jahren Besuch der Realschule in Eggenfelden folgte 1969 bis 1973 die Gymnasialzeit in Pfarrkirchen.

Zum Wintersemester 1973/74 begann ich das Studium der Medizin in Heidelberg. Im WS 1974/75 wechselte ich für die folgenden drei Semester nach Erlangen/Nbg. bis in das erste klinische Studiensemester. Die weiteren klinischen Semester des Medizinischen Studiums konnte ich in München absolvieren. Das Medizinische Staatsexamen legte ich im April 1980 mit überdurchschnittlichem Erfolg ab. Nach dreimonatiger Assistenz Tätigkeit bei einem praktischen Arzt war ich chirurgischer Assistent bis Juli 1981 im Kreiskrankenhaus in Eggenfelden. Nach weiteren sechs Monaten Landarztassistent im Bayerischen Wald übernahm ich eine Allgemeinpraxis in Eggenfelden, wo ich seit Januar 1982 als Praktischer Arzt niedergelassen bin.

Danksagung

Für die Überlassung des Themas sowie für deren wertvolle fachliche Unterstützung habe ich mich aufrichtig zu bedanken bei Herrn Prof. Dr. med. H. Drexel und Prof. Dr. med. W. Schnizer.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Oberarzt Dr. med. I. Magyarosy, der mich methodisch und wissenschaftlich betreute und dem ich einen Teil meiner Abbildungen verdanke.

Zu bedanken habe ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. D. Pongratz vom Friedrich-Baur-Institut, in dessen Räumen und mit dessen Geräten ein Teil der Auswertungen vorgenommen werden konnte.

Herr cand.med. W. Baeßler hat mir vor seinem Studium als Mitarbeiter der Klinik für Physikalische Medizin dankenswerterweise große Hilfe bei der praktischen Durchführung der Arbeit geleistet.

Meiner Frau Sibylle und allen hier nicht genannten Personen, die irgendwie zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben, gilt mein herzliches Dankeschön.

1. Adriano M.A., Armstrong R.B., Edgerton V.R.: Hindlimb muscle fibre populations of five mammals. *J. Histochem. Cytochem.* 21, 51-55, 1973.
2. Awad E.A.: Structural and Chemical Changes in Rat Muscle Following Tenotomy. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 55, 193-197, May 1974.
3. Bageli G.E.: Elektrostimulation of muscles in primary infections - allergic and toxic. *Voprosy kurortologii, fityoterapii, i, lechboj Moskau* (4) 315-9, Jul-Aug. 1975.
4. Beranek R.: Long-term effects of tenotomy on spinal monosynaptic response in the cat. *Science* 130, 981-982, 1959.
5. Booth F.W.: Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats. *J. Appl. Physiol.* 43, (4), 656-661, 1977.
6. Booth F.W., Kelso J.R.: Effect of hindlimb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle. *Pflügers Arch.* 361, 231-238, 1973.
7. Boyes G., Johnston I.: Muscle fibre composition of rat vastus intermedius following immobilization at different muscle lengths. *Pflügers Arch.* 381, 195-200, 1979.
8. Braun G.: Elektrogalvanische Heilkunde. Wohlgemuthverlag, Furtwangen, 8. Aufl. 1926.
9. Brooke M.H., Kaiser K.K.: Muscle fiber types: How many and what kind? *Arch. Neurol.* 23, 369-379, 1970.
10. Brown M.D., Cotter M.A., Hudlicka O., Vrbova G.: The effects of different patterns of muscle activity on capillary density, mechanical properties and structure of slow and fast muscles. *Pflügers Arch.* 361, 241-250, 1976.
11. Bücher Th.: Über Enzymaktivitätsmuster (Diskussion). *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 71, 138, 1965.

12. Burke R.E., Levine D.N., Zajac F.E., Tsairis P., Engel W.K.: Mammalian motor units: Physiological - histochemical correlation in three types in cat gastrocnemius. *Science* 174, 709-712, 1971.
13. Cajal S.R.: Degeneration and regeneration of the nervous system. Oxford Press University, London 1928.
14. Cardenas D.D., Stolov W.C., Hardy R.: Muscle fiber number in immobilization atrophy. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 58, 423-426, 1977.
15. Cardenas D.D., Walter M.D., Stolov C., Hardy, R.: Muscle Fiber Number in Immobilisation Atrophy. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 57, 522, Nov. 1976.
16. Close R.: Dynamic properties of fast and slow. Skeletal muscles of the rat after nerve cross-union. *J. Physiol.* 204, 331-346, 1969. Gr. Britain.
17. Cooper R.R.: Alterations during immobilization and regenerations of skeletal muscle in cats. *J. Bone & Jt. Surg* 54A, 919, 1972.
18. Crockett J.L., Edgerton V.R.: Exercise and restricted activity effects on re-innervated and cross-innervated skeletal muscles. *J. Neurol. Sci.* 25, 1-9, 1975.
19. Drexel H.: 1978 mündliche Mitteilung, Klinik für Physikalische Medizin, München.
20. Dubowitz V., Brooke M.H.: Muscle biopsy: A modern approach. London-Philadelphia-Toronto: W.B. Saunders 1973.
21. Dubowitz V., Pearse A.G.E.: A comparative histochemical study of oxidative enzyme and phosphorylase activity in skeletal muscle. *Histochemie* 2, 105-117, 1960.
22. Dungal W., Breimel P.: Mündliche Mitteilung. Schottengasse 9, A-1010 Wien.
23. Eccles J.C.: The action potentials of the alpha motoneurons supplying fast and slow muscles. *J. Physiol.* 142, 158, 275-291, 1958.

24. Edel H.: Fibel der Elektrodiagnostik und Elektrotherapie. Steinkopff, Dresden 1975.
25. Edgerton V.R., Smith J.L., Simpson D.R.: Muscle fibre type populations of human leg muscles. *Histochem. J.* 7, 259-266, 1975.
26. Edstroem L.: Selective atrophy of red muscle fibres in the quadriceps in long-standing knee-joint dysfunction following injuries to the anterior cruciate ligament. *Neurol. Sci.* 114, 551-559, 1970.
27. Edstroem L., Nystroem B.: Histochemical Types and sizes of Fibres in Normal Human Muscles. *Acta Neurol. Scandinav.* 45, 257-269, 1969.
28. Engel W.K.: The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. *Neurology* 12, 778-794, 1962.
29. Engel W.K., Brooke M.H.: Muscle biopsy as a clinical diagnostic aid. In: *Neurological diagnostic techniques*. Fields, W.S. (ed), pp. 121-123. Springfield: Thomas 1966.
30. Ferguson A.B., Vaugham L., Ward L.: A study of disuse atrophy of skeletal muscle in the rabbit. *J. Bone & Jt. Surg.* 39A, 583, 1957.
31. Findeisen D.G.R.: *Physiotherapie im Aufbau*. Johann-Ambrosius-Barth-Verlag, Leipzig 1966, Bd. 2.
32. Fischbach G.D., Robbins N.: Changes in contractile properties of disused soleus muscles. *J. Physiol.* 201, 305-320, 1969.
33. Fisher R.A., Yates F.: *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*. Oliver and Boyd Ltd., Edinburgh 1963.
34. Freiman D.G., Kaplan N.: Studies on the histochemical differentiation of enzymes hydrolysing adenosine triphosphate. *J. Histochem. Cytochem.* 8, 159-170, 1960.

35. Gauthier G.F.: On the relationship of ultrastructural and cytochemical features to color in mammalian skeletal muscle. *Z. Zellforsch.* 95, 462-482, 1969.
36. Gillert O.: *Niederfrequente Reizstroeme in der therapeutischen Praxis.* München 1968.
37. Gillert O.: *Galvanischer Strom, Faradischer Strom, Exponentialstrom.* Richard-Pflaum-Verlag, München 1953, Bd. 1.
38. Gillert O.: *Kleines ABC der Physikalischen Therapie.* Richard-Pflaum-Verlag München 1977, Bd. 1.
39. Gillert O.: *Hydrotherapie und Balneotherapie in Theorie und Praxis.* Richard-Pflaum-Verlag, München 1977, 6. Aufl.
40. Gillert O.: *Elektrotherapie.* Richard-Pflaum-Verlag, München 1981.
41. Glick D.: Histochemical localization of adenosinetriphosphatase. *Science* 103, 599, 1946.
42. Goldspink D.F.: Changes in the size and protein turnover of the soleus muscle in response to immobilization or denervation. *Biochemical Society Transactions*, 576th Meeting, London 1978.
43. Grober J., Stieve F.E.: *Handbuch der Physikalischen Therapie*, Bd. II. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart 1971.
44. Grützner P.: *Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskeln.* Recneil. Zool. Suisse 1, 665, 1884.
45. Gutmann E.: Denervation and disuse atrophy of skeletal muscle. *Ärztl. Forschung*, Jg. 23, Heft 2, 1969.
46. Gutmann E.: *The denervated muscle.* Publishing House of the Czechoslovak Academic of Sciences Prag 1962.
47. Gutmann G.E.: Atrophy of skeletal muscle. *Ärztliche Forschung* Jg. 23, Heft 2, 33-35, 1969.

48. Gutmann G.E.: Mechanism of compensatory hypertrophy in skeletal muscle of the rat. *Exp. Neurol.* 31, 451-64, 1971.
49. Gutmann E.: Nervous regulation of nuclei acid level in cross-striated muscle. Resynthesis of nuclei acid and proteins in normal and denervated muscle. *Physiol. Bohemoslov.* 10, 501-9, 1961.
50. Hajek I.: Proteolytic activity in denervated and reinnervated muscle. *Physiologia Bohemoslovenica Vol. 13* (Prag 1964, 32-38.
51. Hajek I.: The incorporation of S35 Methionine into proteins of denervated and reinnervated muscle. *Physiologia Bohemoslovenica Vol. 15*, Prag 1966, 148-157.
52. Hebel: The anatomy of the laboratory rat. Verlag: Williams and Wilkins, Baltimore 1976.
53. Henneman E., Olson C.B.: Relations between structure and function in the design of skeletal muscles. *J. Neurophysiol.* 28, 581-598, 1965.
54. Hensler H.: Die Hochfrequenzbehandlung. Radionta Verlag, Berlin 1930.
55. Herbison G.J., Jaweed M.M., Ditunno J.F.: Cast immobilization: effect on the cytoarchitecture of the adult rat soleus and plantaris muscles. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* Vol. 57, Nov. 1976.
56. Herbison G.J.: Synergistic tenotomy: effect on chronically denervated slow and fast muscles of rat. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* Vol. 56, Nov. 1975, 483-486.
57. Herbison G.J.: Effect of electrical stimulation on denervated muscle of rat. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 11, 516-522, 1971.
58. Herbison G.J., Jaweed M.M., Ditunno J.F.: Muscle fiber atrophy after cast immobilization in the rat. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 59, 301-305, 1978.

59. Herbison G.J., Jaweed M.M., Ditunno J.F.: Muscle atrophy in rats following denervation, casting, inflammation and tenotomy. Arch. Phys. Med. Rehabil. 60, 401-404, 1979.
60. Hermansen L., Wachlova M.: Capillary density of skeletal muscle in welltrained and untrained men. J. appl. Physiol. 30, 860-863, 1971.
61. Hettinger T.: Untersuchungen zur Bestimmung der Muskelatrophieschwelle. Intern. Zeitschr. angew. Physiol. einschl. Arbeitsphysiologie 16, 52-56, 1955.
62. Hettinger T.: Das Verhalten der Kraft eines trainierten Muskels während und nach mehrtägiger Ruhestellung. Intern. Zeitschr. angew. Physiol. einschl. Arbeitsphysiologie 18, 357-360, 1961.
63. Hollmann W., Hettinger T.: Sportmedizin - Arbeits- und Trainingsgrundlagen. F.K. Schattaucher-Verlag Stuttgart/New York 1976.
64. Järvinen M.: Immobilization Effect on the Tensile Properties of striated Muscle: An Experimental Study in the Rat. Arch. Phys. Rehabil. 58, 123-127, 1977.
65. James N.T.: Histochemical demonstration of myoglobin in skeletal muscle fibres and muscle spindles. Nature 216, 1174-1175, 1968.
66. Jansson E., Sjoedin B., Thorstensson A., Hulten B., Frith K.: Changes in muscle fibre type distribution in man after physical exercise. A sign of fibre type transformation? Acta Physiol. Scand. 104, 235-237.
67. Jantsch H.: 1977 Mündliche Mitteilung. Lehrstufe d. Phys. Med. Wien.
68. Jantsch H., Schuhfried F.: Niederfrequente Stroeme zur Diagnostik und Therapie. Wilhelm-Maudrich-Verlag, Wien/München/Bern 1974.

69. Jaweed M.M.: Histochemical Response of Rat Phosphorylase to Different Workloads After Tenotomy of the Synergists. Arch. Phys. Med. Rehabil. 55, 198-201, May 1974.
70. Jerusalem F.: Muskelerkrankungen. Thieme, Stuttgart 1979.
71. Jochheim K.A., Scholz J.F.: Rehabilitation. Bd. III. Georg-Tieme-Verlag, Stuttgart 1975.
72. Karpati G., Engel W.K.: Correlative histochemical study of skeletal muscle after supra segmental denervation, peripheral nerve section and skeletal fixation. Neurology (Minneapolis) 18, 681-692, 1968.
73. Kenneth B., Washburn M.D.: Physical Medicine and Rehabilitation. Hans-Huber-Publishers, Bern/Stuttgart/Vienna 1976.
74. Kidd G., Brodie S.: The motor unit: A review. Physiotherapy 66, 146-152, 1980.
75. Kleditzsch J., Lange A.: Die muskelstimulierende Wirkung von Nieder- und Mittelfrequenzstroemen, isometrischen Spannungs- und aktiven Bewegungsübungen nach Meniskotomie. Beitr. Orthop. u. Traumatol. 26, 380-385, 1979.
76. Knoll P.: Über protoplasmaarme und protoplasmareiche Muskulatur. Denkschr. Akad. Wiss. Wien. Math. Naturw. Klasse 58, 633, 1891.
77. Krüger P.: Tetanus und Tonus der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere und des Menschen. Akad. Verlagsges. Leipzig 1952.
78. Kuprian: Sport Physiotherapie. Gustav Fischer Verlag New York, S. 80, 1981.
79. Langley J.N.: Observations on denervated muscle. The Journal of Phys. 50, 335-344, London 1916.
80. Lippschütz A., Andova A.: The Comparative Atrophy of the Skeletal Muscle after cutting the Tendon. J. Physiol. London 55, 300-304, 1921.

81. Luco J.V.: Fibrillation and hypersensitivity to ACh in denervated muscle: effect of length of degenerating nerve fibers. *J. Neurophys.* 18, 65-73, Springfield 1955.
82. Maier A.: The effects on spindles of muscle atrophy and hypertrophy. *Exp. Neurol.* 37, 100-123, New York 1972.
83. McMinn R.M.H., Virbova G.: Morphological changes in red and pale muscles following tenotomy. *Nature* 195, 509, 1962.
84. Melichna J., Gutmann E.: Stimulation and immobilization effects on contractile and histochemical properties of denervated muscle. *Pflügers Arch.* 352, 165-178, 1974.
85. Mero A., Luhtanen P., Viitasalo J.T., Komi P.V.: Relationships between the maximal running velocity, muscle fiber characteristics, force production and force relaxation of sprinters. *Scand. J. Sports Sci.* 3, 16-22.
86. Meyer A.W.: Theorie der Muskelatrophie. *Mitteilungen aus den Grenzgebieten der Medizin und Chirurgie* 35, 651-682, Jena 1922.
87. Miledi R.: Some mitochondrial changes in denervated muscle. *J. Cell Science* 3, 49-54, Cambridge 1968.
88. Muskatello: On the differential response of sarcoplasm to denervation in frog muscle. *J. Cell Biol.* 27, 1-24, 1965.
89. Navez: Effect de l'immobilisation sur la force et vitesse du soléaire de Rat. *Journal de Physiologie* 65, 149A, 1972.
90. Nicholls J.G.: The electrical properties of denervated skeletal muscle. *The Journal of Phys.* 131, 1-12, London 1956.
91. Ogata T., Mori M.: Histochemical studies of oxidative enzymes in vertebrate muscles. *J. Histochem. Cytochem.* 12, 171-182, 1964.

92. Padykula H.A., Herman E.: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J. Histochem. Cytochem.* 3, 170-183, 1955.
93. Pette D., Ramirez B.U., Müller W., Simon R., Exner G.U.: Influence of intermittent long-term stimulation on contractile, histochemical and metabolic properties of fibre populations in fast and slow rabbit muscles. *Pflügers Arch.* 361, 1-7, 1975.
94. Pongratz D.: Differentialdiagnose der Erkrankungen der Skelettmuskulatur an Hand von Muskelbiopsien. Geleitwort G. Bodechtel. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
95. Portugalov: Histologische und histochemische Charakteristika der Skelettmuskeln von Ratten bei Immobilisation. *Archiv Anatomii* 6, 7-12, S. 82-91, 1971.
96. Pschyrembel W.: Klinisches Woerterbuch. Verlag de Gruyter 1975.
97. Ranvier L.: Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs, chez les Lapins et chez les Raies. Paris 1873, 1030-1034.
98. Ranvier L.: Note sur les vaisseaux sanguins et al circulatio dans les muscles rouges. *Arch. Physiol. Norm. Pathol.* 1, 446, 1874.
99. Ranvier L.: Le gons d'anatomie generale sur le systeme musculaire. Paris. V.A. Delahaye 1880.
100. Reimer G.: Elektrizität in der Medizin. J. Althaus Verlag, Berlin 1840.
101. Rifenbeck D.H.: Substrate utilisation by disused rat skeletal muscles. *Am. J. Physiol.* 226, 2, 295-297, Boston 1974.
102. Romanul F.C.A.: Enzymes in muscle. *Arch. Neurol.* 11, 355-378, 1964.
103. Rosemeyer B., Stürz H.: Musculus quadriceps femoris bei Immobilisation und Remobilisation. *Z. Orthop.* 115, 182-188, 1977.

104. Sachs L.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1972.
105. Salmons S., Vrbova G.: The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. J. Physiol. 201, 535-549, 1969.
106. Sargeant J., Davies C.T.M., Edwards R.H.T., Maunder C., Young A.: Functional and structural changes after disuse of human muscles. Clin. Sci. Mol. Med. 52, 337-342, 1977.
107. Schiaffino S., Handzlikova V., Pierobon S.: Relations between structure and function in rat skeletal muscle;fibers. J. Cell Biol. Vol. 47, 107-119, 1970.
108. Schimrigk K., McLaughlin J., Grüniger W.: The effect of elektrical stimulation on experimentally denervated rat muscle. Scand. J. Rehabil. Med. 9, 55-60, 1977.
109. Schmidt R.F., Thews G.: Einführung in die Physiologie des Menschen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1976.
110. Siegenthaler W.: Klinische Pathophysiologie. Thieme Verlag, Stuttgart 1976.
111. Solandt D.Y., Delury D.B., Hunter J.: Effect of electrical stimulation on atrophy of denervated skeletal muscle. Arch. Neurol. Psychiat. 49, 802-807, 1943.
112. Staudte H.W., Brussatis F.: Selective changes in size and distribution of fibre types in vastus muscle from cases of diffeent knee joint affections. Z. Rheumatol. 36, 5/6, 143-160, 1977.
113. Stein J.M., Padykula H.A.: Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat. Amer. J. Anat. 110, 103-124, 1962.
114. Stolov W.C., Hardy R.W.: Muscle Contracture-Growth and Immobilization Effects. ACRM - San Diego, Nov. 12, 1976.

115. Stolov W.C., Riddell W.M.: The effect of immobilization and denervation on rat gastrocnemius muscles. Arch. Phys. Med. 727, 1969.
116. Stolov W.C., Riddell W.M., Shrier K.P.: Effect of elektrical stimulation on contracture of immobilized, innervated and denervated muscle. Arch. of Physical Med. Rehabil. S. 589, 1971.
117. Summers T.B., Hines H.M.: Effect of immobilisation in various positions upon the weight and strength of skeletal muscle. Arch. Phys. Med. 32, 142, 1951.
118. Szöör A., Boross G., Hollósi T., Szilágyi T., Kesztyüs L.: Experimental investigations on hypokinesis of skeletal muscles with different functions. Changes in muscle weight, protein and contractile properties. Acta biol. Acad. Sci. hung. 28, 2, 195-204, 1977.
119. Tabary J.C., Tabary C., Tardieu C., Tardieu G., Goldspink G.: Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due to immobilization at different lengths by plaster casts. J. Physiol. 224, 231, 1972.
120. Taylor R.G.: Contractile properties of fast and slow skeletal muscles: Effect of denervation and synergistic tenotomy. Arch. Phys. Med. Rehabil. 57, 564, Chicago 1976.
121. Taylor R.G.: Contractile properties of fast and slow skeletal muscles: effect of maturation and the dystrophic process in mice. Arch. Phys. Med. Rehabil. 57, 564, Chicago 1976.
122. Tomanek R.J., Lund D.D.: Degeneration of different types of skeletal muscle fibres. II. Immobilization. J. Anat. 118, 409, 1974.
123. Vrobova G.: The Effect of Motoneurone Activity on the Speed of Contraction of striated muscle. J. Physiol. 169, 513-526, 1963.

124. Weigert M.: Stellungnahme zur Arbeit von U. Bauer, Kinzl, Wolter:
Untersuchung zur Knochenbruchheilung unter Einfluß von elektrischem
Gleichstrom. Z. f. Orthopädie 112, 402, 1974; 113, 289, 1975.
125. Young J.T.: The History of Shape of a Nerve Fibre in Essays in Growth and
form presented Ar d'Aray W. Thompson. Oxford University Press, London, S.
41, 1945.

